

---

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

## RECHERCHES SUR LA VIRULENCE DE LA BACTÉRIDIE

PAR M<sup>lle</sup> TSIKLINSKI.

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff, à l'Institut Pasteur.)

---

La virulence des microbes pathogènes varie suivant les milieux, et les changements qu'elle subit à la suite d'un séjour dans l'organisme des animaux réfractaires ont, depuis longtemps déjà, attiré l'attention des savants. Pour renforcer les vaccins charbonneux, on les faisait passer successivement, au laboratoire de M. Pasteur, par des animaux de plus en plus réfractaires. MM. Chamberland et Roux ont obtenu un virus charbonneux extrêmement virulent, en cultivant les bactéridies dans le poulet. Mais comme on songeait alors surtout à la pratique, cette question ne fut pas étudiée d'une façon spéciale. Plus tard plusieurs savants (Flugge, Petruschky, Sanarelli, Nuttall, Oemler, Kitt, etc.) observèrent des faits analogues, mais avec des résultats parfois contradictoires. Ainsi, par exemple, pour MM. Petruschky et Sanarelli, la virulence de la bactéridie se perd après passage par l'organisme de la grenouille, tandis que pour M. Nuttall, il n'y a jamais, dans ces conditions, d'affaiblissement du virus charbonneux. M. Kitt a essayé de prouver l'affaiblissement de la bactéridie qui a séjourné dans le pigeon, et M. Flugge admet qu'en général les microbes pathogènes s'atténuent quand ils passent par des animaux réfractaires.

En présence de ces contradictions, M. Metchnikoff a entrepris une série d'expériences avec les bactériidies charbonneuses. Pour voir si ce virus s'affaiblit ou si au contraire il se renforce après son passage par des animaux réfractaires, il a fait passer la bactériдие par des pigeons et a vu sa virulence s'augmenter. Cette augmentation était évidente sur les pigeons eux-mêmes et les animaux sensibles, tels que les cobayes; les lapins succombaient plus rapidement au virus ayant séjourné dans l'organisme des pigeons, qu'au virus charbonneux ordinaire.

Dans un travail exécuté au laboratoire de M. Roux, M. Malm, poursuivant le même but, fit des expériences sur les chiens, animaux réfractaires au charbon. Il a vu qu'un virus charbonneux, qui tuait les lapins à peu près en 72 heures et le cobaye en 36 heures, les faisait périr plus vite après son passage par l'organisme des chiens, et d'autant plus vite que ces derniers étaient plus réfractaires. Ainsi, les cultures, tirées de l'œdème des chiens inoculés sous la peau, ou de la rate et du foie des chiens inoculés dans la veine de l'oreille, tuaient le lapin en 32 heures environ et le cobaye en 27-30 heures.

Les bactériidies qui avaient passé par l'organisme des chiens « sensibles » au charbon et morts de cette maladie, devenaient aussi plus virulentes pour les lapins que le virus ordinaire, mais à un moindre degré que la culture tirée des chiens réfractaires : le lapin mourait 46 heures environ après l'inoculation.

## I

Ce travail a pour objet l'étude des changements que subit le charbon atténué, c'est-à-dire le vaccin : 1<sup>o</sup> par son séjour dans l'organisme d'animaux de différentes sensibilité; 2<sup>o</sup> sous l'influence du sérum en dehors de l'organisme animal.

Une série d'expériences a été faite sur la proposition de M. Metchnikoff : d'abord avec le 1<sup>er</sup> vaccin charbonneux pastorien, et ensuite avec un autre vaccin plus faible.

La constatation du renforcement ou de l'affaiblissement de ce vaccin pendant les expériences a été faite à l'aide de la comparaison de la virulence des cultures, dans le bouillon ou sur la



gélose, de la bactéridie du vaccin mis en œuvre, et de celle qui sortait de l'organisme. En faisant cette comparaison de la virulence de deux cultures, on échappait à l'objection qui attribuerait le renforcement du vaccin non au passage par l'organisme animal, mais à l'action du bouillon sur les bactéridies.

Dans la première série d'expériences on employait le premier vaccin charbonneux ordinaire, cultivé dans du bouillon sans peptone (1 de viande, 2 d'eau), ou sur la gélose; les cultures étaient âgées de 20-24 heures.

Comme animaux d'expériences on se servait d'un côté de lapins, résistant à l'action du vaccin, et de l'autre de souris blanches qui sont au contraire très sensibles. Le renforcement ou l'affaiblissement du vaccin était contrôlé sur les animaux qui viennent d'être cités et sur les cobayes. Les inoculations étaient faites en injectant 0,25<sup>cc</sup> de culture sous la peau de l'abdomen des souris et des cobayes. Quant aux lapins, on leur inoculait dans la chambre antérieure de l'œil des cultures sur la gélose.

Le vaccin avait passé successivement par 15 souris; dans chaque expérience on employait deux souris et le passage était fait avec la bactéridie de celle qui mourait la première.

Les inoculations des lapins de passage ont commencé le même jour que pour les souris. Le premier vaccin, en culture sur gélose, a été introduit dans l'œil de trois lapins. Deux sont morts le 7<sup>e</sup> jour, et le sang de l'un d'eux,ensemencé sur gélose, servit de début aux passages.

Voici le résumé des résultats obtenus :

Pass.	1	Souris de 14.5 gr.	Survie 48 h.	Lapin de 1.850 gr.	Survie 156 h.				
—	2	—	21.5	—	37	—	1.950	—	48
—	3	—	18	—	60	—	1.860	—	72
—	4	—	16	—	52	—	1.550	—	72
—	5	—	26	—	32	—	1.650	—	96
—	6	—	28	—	46	—	1.850	—	46
—	7	—	20	—	38	—	1.680	—	46
—	8	—	12	—	36	—	1.450	—	47
—	9	—	12	—	62	—	1.780	—	48
—	10	—	10	—	77	—	2.010	—	54
—	11	—	12	—	60	—	1.700	—	41
—	12	—	10.5	—	130	—	1.660	—	46
—	13	—	12	—	192	—	1.870	—	46
—	14	—	11	—	68	—	1.850	—	40
—	15	—	14	—	48	—	1.520	—	46
—	16	—	15	—	8 <sup>e</sup> jour.				

*Souris.* — On voit qu'avec les souris la mort survient après des périodes de temps variables, le vaccin passant par divers degrés de virulence. La mort avait toujours lieu par le charbon; il y avait un large œdème dans la région abdominale, et une hypertrophie notable de la rate et du foie.

La virulence acquise a été éprouvée sur le cobaye aux 8<sup>e</sup>, 11<sup>e</sup> et 14<sup>e</sup> passages, ce qui correspond respectivement à des séjours de 349, 548 et 938 heures dans l'organisme des souris.

Voici le résumé des résultats :

Pass.	8	Un cobaye de 280 gr.	meurt en 132 h.
—	11	— 280	— 90
—	14	— 450	— 90

Le cobaye du 8<sup>e</sup> passage est mort un peu plus vite que le témoin. Les deux dernières expériences témoignent d'un certain renforcement de la virulence.

*Lapins.* — Avec les lapins, il y a augmentation de la virulence dans les passages successifs. Dès le 6<sup>e</sup> passage il y avait toujours un des lapins inoculés qui mourait le 3<sup>e</sup> jour, c'est-à-dire après 48 ou 46 heures. Les autres lapins inoculés le même jour survivaient en général 2 ou 3 jours au plus. Tous mouraient bien du charbon, avec exsudats péricardiques, hyperémie de la rate, et bactériemies dans le sang et les organes.

L'essai de la virulence sur le cobaye et la souris, à divers intervalles, a donné les résultats que voici :

Pass. 6	Cobaye de 285 gr.	meurt en 52 h.	Souris de 11 gr.	meurt en 33 h.
— 10	— 415	— 54	— 11	— 34
— 14	— 560	— 53	— 15,5	— 32

Tant sur le cobaye que la souris, on constate donc une augmentation certaine de la virulence. Les souris inoculées avec le premier vaccin qui a subi des passages par le lapin meurent plus rapidement que celles inoculées en même temps avec la culture obtenue d'autres souris.

La virulence des vaccins, après les 7<sup>e</sup> et 15<sup>e</sup> passages par les lapins ainsi que par les souris, a été en outre éprouvée par des inoculations (0,25 c. c. de culture en bouillon) sous-cutanées de deux lapins; ceux-ci ne manifestèrent aucun trouble.



De tout ceci on peut tirer les conclusions suivantes :

1<sup>o</sup> Le premier vaccin, après ses passages successifs dans les souris, se renforce, comme on le constate sur les cobayes ;

2<sup>o</sup> La force du premier vaccin qui a passé par l'organisme des lapins augmente à chaque passage, ce que l'on constate par l'action de ce vaccin sur les cobayes et les souris, ainsi que sur les lapins eux-mêmes ;

3<sup>o</sup> La virulence du premier vaccin augmente plus après séjour dans l'organisme des lapins que dans celui des souris, ce que l'on constate en comparant les effets des deux cultures.

## II

Dans le but de vérifier les résultats obtenus, on a fait une nouvelle série d'expériences avec un premier vaccin<sup>1</sup> plus faible que le précédent.

On peut supposer que le vaccin renferme des bâtonnets de virulences différentes ; en admettant cette supposition, le renforcement du vaccin dans l'organisme réfractaire s'expliquerait par la survie des bacilles les plus forts et l'élimination des faibles. D'un autre côté on peut également s'expliquer ce renforcement par l'accroissement de puissance des individus faibles, élaborant au fur et à mesure que leur vie se prolonge dans des conditions défavorables, des moyens de défense plus efficaces. Pour vérifier cette dernière supposition, et pour diminuer quelque peu l'inégalité individuelle de la virulence des bâtonnets, on a fait des expériences avec la culture obtenue *d'un seul bâtonnet* isolé, ayant donné une colonie sur plaque de gélatine. L'ensemencement avait été fait avec une goutte de sang de souris.

Dans ces expériences, on employait comme dans la 1<sup>re</sup> série d'expériences les cultures dans du bouillon et sur gélose. On a fait aussi passer ce vaccin par les lapins et les souris, mais comme il était plus faible qu'à l'ordinaire, il a été très difficile de tuer le premier lapin, et il a fallu pour cela un temps beaucoup plus long.

Dans la première expérience, sur trois lapins inoculés dans

1. Ce vaccin tuait la souris en 48 heures, et le cobaye le 8<sup>e</sup> jour. Son inoculation au lapin restait inoffensive.

l'œil, aucun ne mourut. Le troisième jour, l'humeur aqueuse d'un de ces lapins contenait des bâtonnets et donnait une culture en bouillon. Cette culture servit à inoculer trois nouveaux lapins qui ne moururent point; on n'est pas parvenu davantage à les tuer en les inoculant dans la veine de l'oreille avec 35 c. c. de culture en bouillon. On a sacrifié un de ces derniers lapins 24 heures après l'inoculation, et on n'a constaté la présence de bâtonnets ni dans le sang, ni dans les organes, dont l'ensemencement ne donna aucune culture; on ne les a pas trouvés non plus sur les préparations microscopiques. A la suite de ces résultats négatifs, on résolut de prendre de grandes quantités de culture en bouillon (70 c. c.) pour faire les inoculations dans les veines. Ce n'est qu'alors qu'un des deux lapins inoculés mourut le 5<sup>e</sup> jour; la culture obtenue avec son sang servit de début aux passages. Le second lapin inoculé en même temps, et sacrifié 24 heures après l'inoculation, ne donna aucune culture.

La culture tirée du premier lapin ne tua, sur trois lapins (dont deux inoculés dans l'œil et un dans la veine avec 70 c. c.), qu'un seul inoculé dans l'œil. Ce lapin succomba au bout de 72 heures; les deux autres survécurent.

L'autopsie démontra une petite hypertrophie de la rate, qui n'avait pas la couleur noire caractéristique; il n'y avait que peu de bâtonnets sur les préparations étalées; l'ensemencement du sang et des organes ne donna une culture qu'au bout de 48 heures. Et encore cette culture était si faible, qu'inoculée dans l'œil de 3 lapins, elle n'en tua aucun; ce n'est qu'après l'avoir inoculée à quatre nouveaux lapins (deux dans l'œil et deux dans la veine avec 70 c. c.) qu'elle parvint à en tuer deux : l'un après le 6<sup>e</sup> et l'autre après le 10<sup>e</sup> jour. La culture obtenue du premier lapin mort fut inoculée à d'autres lapins, qui constituèrent le 4<sup>e</sup> passage.

On ne remarqua de renforcement bien prononcé qu'au 5<sup>e</sup> passage : à partir de celui-ci, chaque fois un des lapins inoculés dans l'œil mourait dans un temps très court (3<sup>e</sup> jour). L'autopsie montrait le tableau caractéristique du charbon; il y avait beaucoup de bâtonnets sur les préparations étalées, et 24 heures suffisaient pour obtenir la culture.

Voici, en résumé, les résultats des passages successifs tant sur le lapin que la souris :



Pass.	1 Sour. de 12 gr., meurt en 40 h.	Lap. de 1.375 gr., meurt en 100 h.
— 2 —	8.5	48 — 1.400 — 72
— 3 —	10.5	82 — 1.400 — 115
— 4 —	12	78 — 1.200 — 68
— 5 —	10	48 — 1.530 — 44
— 6 —	12	156 — 1.550 — 28
— 7 —	11	48 — 1.710 — 46
— 8 —	10	28 — 1.520 — 48
— 9 —	15.5	36 — 1.645 — 46
— 10 —	11	69 — 1.720 — 48
— 11 —	13	65 — 1.950 — 84
— 12 —	12	33 — 1.880 — 54
— 13 —	11.5	55 — 1.505 — 45
— 14 —	12	56 — 1.280 — 65
— 15 —	13	60 — 1.910 — 70
— 16 —	15	53 — 1.670 — 54
— 17 —	10	40 — 1.800 — 50
— 18 —	10	64 — 1.780 — 48
— 19 —	17	36 — 1.750 — 76
— 20 —	19	36 — 1.576 — 66
— 21 —	16.5	33 — 2.000 — 45
— 22 —	17	23 — 1.890 — 44
— 23 —	13	36 — 2.040 — 31 et 28
— 24 —	11	60 — 1.660 — 38 et 40
— 25 —	12	36 — 1.880 — 45
— 26 —	15	36 — 1.990 — 42
(Inoculations sous la peau.)		
— 27 —	14	82 — 1.800 — 38
— 28 —	14	67 — 1.750 — 48
— 29 —	14	45 — 1.600 — 64
— 30 —	15	43 — 2.020 — 48
— 31 —	15	46 — 2.000 — 48
— 32 —	16.5	56 — 1.780 — 36
— 33 —	17	72

*Lapins.* — On a fait sur ces animaux 32 passages, qui ont été suivis d'un renforcement progressif de la virulence. On a fini par arriver (26<sup>e</sup> passage) à une culture très virulente, dont 0,25 c. c. inoculés sous la peau tuaient un lapin en 36 à 48 heures, avec œdème étendu autour du point d'inoculation. Des inoculations sous-cutanées faites de même aux 21<sup>e</sup>, 22<sup>e</sup> et 24<sup>e</sup> passages ont amené la mort respectivement en 6 jours, 6 jours et 4 jours.

Ce renforcement progressif du virus vaccinal très atténué, par ses passages à travers le lapin, résulte aussi des expériences suivantes dans lesquelles on a inoculé à des cobayes et à des souris des cultures provenant de divers passages.

Pass.	6	Uncob. de 370 gr., meurt en 62 h.	Unesour. de 16 gr., meurt en 40 h.
—	8	— 325 — 74	— 14 — 46
—	9	— 305 — 66	— 10 — 60
—	11	— 345 — 74	— 12 — 55
—	12	— 401 — 80	— 11.5 — 44
—	20	— 730 — 76	— 17 — 74
—	21	— 595 — 60	— 10 — 45
—	22	— 540 — 62	— 17 — 46
—	25	— 450 — 60	— 15 — 46
—	28	— 655 — 60	— 13 — 36
—	30	— 450 — 58	— 14 — 36
—	32	— 770 — 58	— 16.5 — 35

Au début ce vaccin tuait le cobaye, en moyenne le 8<sup>e</sup> jour, et la souris en 48 heures, tandis qu'après les passages, la mort survenait en 58-60 heures pour le cobaye et en 35-40 heures pour la souris.

*Souris.* — L'origine des 32 passages sur la souris a été la colonie obtenue sur plaque, dont nous avons parlé au commencement de ce chapitre. Mais ici les résultats ont été autres que sur les lapins. La virulence a été en augmentant d'abord jusqu'à un certain degré, puis a diminué, et finalement le virus de passage a cessé de tuer les cobayes, comme le montrent les résultats suivants :

Pass.	14	Cobaye de 205 gr., meurt en 64 heures.
—	15	— 210 — 77 —
—	17	— 290 — 90 —
—	19	— 335 — 68 —
—	20	— 336 — 75 —
—	21	— 565 — au 5 <sup>e</sup> jour.
—	22	— 430 — 5 <sup>e</sup> —
—	25	— — survie.
—	28	— 500 — au 6 <sup>e</sup> jour.
—	30	— — survie.
—	32	— — survie.

Pendant les passages sur les souris elles-mêmes, ce vaccin subissait des variations irrégulières de virulence, et en tout ces expériences ressemblent à celles de la première série. Si dans celles-ci, on n'a pas observé l'affaiblissement du vaccin dans les essais sur les cobayes, c'est peut-être que le nombre de passages avait été trop restreint, et que le vaccin n'avait pas séjourné dans l'organisme de la souris un temps aussi long que celui qu'il y a passé dans la seconde série d'expériences.

Les faits ci-dessus autorisent les conclusions suivantes :



1° Le passage du vaccin atténué par les souris amène plutôt un affaiblissement qu'un renforcement de la virulence ; c'est ce qu'on constate dans les essais sur les cobayes ;

2° Sur les souris elles-mêmes, la virulence du vaccin présente des variations ;

3° Le vaccin atténué se renforce par le passage de lapin à lapin, ce que l'on constate sur les lapins eux-mêmes, ainsi que sur les cobayes et les souris ;

4° La virulence du vaccin ayant séjourné dans les lapins croît en raison directe du nombre des passages. Cela est prouvé par la mort plus rapide des lapins de passages plus avancés, ainsi que par celle des cobayes et des souris, inoculés avec les mêmes cultures.

Ces conclusions concordent avec les résultats cités au commencement de cet article : la virulence de la bactéridie s'accroît par son séjour dans un organisme peu sensible ; cela est vrai pour le virus (M. Malm) et le vaccin.

### III

Restait à se faire une idée du processus par lequel se produit le renforcement du vaccin dans l'organisme réfractaire. Nous avons vu plus haut qu'on pouvait l'attribuer à un accroissement de virulence des individus faibles ; il est donc très important de rechercher de quel degré sont les différences individuelles des bactéridies constituant le vaccin. Pour cela, une goutte du sang de la souris, morte du premier vaccin <sup>1</sup>, futensemencée sur plaque de gélatine. Une des colonies développées futensemencée dans du bouillon. Une goutte de cette culture fut, à son tour,ensemencée sur plaque de gélatine, et on en a retiré trente colonies dont chacune a été cultivée dans le bouillon et sur gélose. Avec les 30 cultures en bouillon obtenues, on a inoculé 30 souris, 30 cobayes et 15 lapins qui ont reçu chacun 0,25<sup>cc</sup> de culture sont la peau ; 15 autres lapins ont été inoculés dans l'œil avec les cultures sur gélose. Voici les résultats de celles de ces inoculations qui ont abouti.

1. Ce 1<sup>er</sup> vaccin tuait la souris en 50-60 heures, le cobaye le 8<sup>e</sup> jour et ne produisait pas d'effet apparent sur le lapin.

Pass.	1	Souris de 14	gr. meurt en 60 h.	Cobaye de 505 gr. meurt le	8 <sup>e</sup> j.
—	2	—	15	—	36
—	3	—	18.5	—	42
—	4	—	12	—	36
—	5	—	14.5	—	36
—	6	—	15	—	40
—	7	—	14	—	84
—	8	—	13.5	—	72
—	9	—	13	—	60
—	10	—	20	—	60
—	11	—	17	—	60
—	12	—	15	—	60
—	13	—	18	—	84
—	14	—	14	—	60
—	15	—	13	—	20
—	16	—	20	—	80
—	17	—	16	—	60
—	18	—	18	—	56
—	19	—	17	—	72
—	20	—	18	—	36
—	21	—	13.5	—	60
—	22	—	14	—	70
—	23	—	14	—	60
—	24	—	15	—	7 <sup>e</sup> j.
—	25	—	16	—	8 <sup>e</sup>
—	26	—	15	—	7 <sup>e</sup>
—	27	—	15	—	7 <sup>e</sup>
—	28	—	15	—	7 <sup>e</sup>
—	29	—	16	—	8 <sup>e</sup>
—	30	—	20	—	10 <sup>e</sup>

Les différences de virulence entre les divers bacilles du vaccin n'est donc pas très grande. Aucune des cultures n'a tué le lapin inoculé sous la peau ou dans l'œil. Les variations observées sur les souris et les cobayes ne sont pas attribuables uniquement aux différences dans les bâtonnets origines des cultures, mais aussi à des différences dans les animaux, qui réagissent inégalement vis-à-vis d'un même vaccin.

Il n'existe donc pas de différences bien marquées dans la virulence des divers bacilles du vaccin étudié, et pour expliquer son renforcement après passage dans un organisme réfractaire, on ne peut dire que ce passage a rendu actifs les bâtonnets qui ne l'étaient pas. Ce n'est pas une action de détail qui est entrée en jeu, c'est une action d'ensemble. Les bactériidies qui pénètrent dans les tissus d'un animal réfractaire y attirent les phagocytes en vertu de leur chimiotaxie positive, et sont rapidement



englobées et digérées par eux. Lorsqu'elles réussissent à s'y implanter et à y vivre, c'est sans doute qu'elles ont réussi à élaborer des moyens de défense et de protection sous forme de toxines ou de substances douées de chimiotaxie négative, repoussant ou n'attirant pas les phagocytes, et donnant aux bactéridies le temps de se développer.

A cette cause de renforcement vient aussi s'ajouter la survie des individus les plus forts dans leur lutte avec les phagocytes, comme le dit M. Bordet <sup>1</sup> pour expliquer l'augmentation de virulence du *V. Metchnikovii* après son séjour dans l'organisme vacciné. Les leucocytes appelés dans la région d'inoculation, y englobent avant tout les individus les moins résistants, laissant les plus forts qui se multiplient. La même sélection se produisant à chacune des générations successives, la virulence doit augmenter.

L'augmentation de la virulence, dans ces conceptions, résulte donc uniquement d'actions cellulaires, et il y a intérêt à se demander s'il n'y a pas aussi renforcement du vaccin à la suite de son séjour dans le sérum du lapin en *dehors* de l'organisme, c'est-à-dire dans des conditions où la lutte entre bactéridies et phagocytes est supprimée.

Pour obtenir une réponse à cette question, on a fait quelques nouvelles expériences : le même vaccin <sup>2</sup> a été cultivé dans le sérum du lapin *in vitro*, à la température du corps de l'animal. Le vaccin restait dans ces conditions autant d'heures qu'il était resté dans l'organisme animal, et tous les trois jours on le réensemencement dans du nouveau sérum. La force du vaccin ayant séjourné dans le sérum était éprouvée par une inoculation à des souris, des cobayes et des lapins. On faisait ces épreuves de virulence après la même période de temps que celle qui servait à constater le renforcement ou l'affaiblissement du vaccin ayant séjourné dans l'organisme des animaux. Ainsi, après un séjour de 430 heures dans le sérum (temps correspondant au 6<sup>e</sup> passage des lapins), le vaccin futensemencé dans le bouillon et sur gélose. Les cultures sur gélose furent inoculées aux lapins dans l'œil; les souris et les cobayes reçurent sous la peau 0,25<sup>cc</sup> de la culture dans le bouillon. Ce fut la première expérience de contrôle.

1. Ces *Annales*, mai 1892.

2. Ce premier vaccin tuait la souris en 50 à 60 heures, le cobaye en 8 jours et ne produisait pas d'effet apparent sur le lapin.

Les mêmes expériences ont été faites après 528 heures et 672 heures de séjour du vaccin dans le sérum (8<sup>e</sup> et 11<sup>e</sup> passages au travers du lapin).

Voici, brièvement résumés, les résultats obtenus :

Séjour des cultures dans le sérum.	Survie après l'inoculation.			Poids des cadavres.		
	Souris.	Cobayes.	Lapins.	Souris.	Cobayes.	Lapins.
430 h.	60-60 h.	72	h. 6-6 jours	20-16 g.	450 gr.	1.650-1.620 g.
528	60-62	76	6-6 —	22-16	570	1.520-1.600
672	30-36	72 h. 6 j.	4-7 —	26-17	560-710	1.800-1.970
840	48-60	60-72 h.	4-5 —	17-18	530-540	1.770-1.700
1.243	46 survie	60-72	9 survie	17	750-740	1.470
1.291	70 survie	60-70	10 survie	17	570-430	1.650
1.405	60-60	{ 72-74 84-84	5-10	15-16	{ 650-640 450-430	1.450
1.571	60 survie	survie	—	15,5	{ 350-320 560-610	—

Ces expériences prouvent que *dans le sérum in vitro il se passe tout autre chose que dans l'organisme animal.*

Ainsi, 1<sup>o</sup> quoiqu'il se produise quelque renforcement des bactériidies dans le sérum, ce renforcement n'est pas continu, et après avoir augmenté rapidement jusqu'à un certain degré, il tend à s'affaiblir. Ainsi, dès la 5<sup>e</sup> expérience, il y avait toujours un lapin ou même plusieurs qui survivaient. Dans la dernière expérience, sur 6 lapins inoculés, pas un seul ne mourut, et, de deux souris inoculées, une survécut. Quant à ce renforcement envisagé en lui-même, il faut tenir compte de ce fait que dans le sérum, la culture est plus abondante que dans le bouillon, et contient, pour le même volume, plus de bacilles. D'un autre côté, dans le sérum, la bactériidie forme ses spores beaucoup plus tardivement que dans le bouillon, et reste ainsi exposée plus longtemps, à l'état filamenteux, à l'action atténuatrice de l'air. C'est sans doute pour cette raison que les cultures répétées dans le sérum diminuent peu à peu de virulence.

2<sup>o</sup> Le renforcement du vaccin dans le sérum est beaucoup moins considérable que dans l'organisme de l'animal réfractaire : a) pas un seul lapin ne fut tué par la culture en sérum le 3<sup>e</sup> jour, comme cela avait lieu avec les vaccins ayant subi les passages par l'organisme animal; b) sur 10 lapins inoculés sous la peau avec la culture en sérum, il n'en mourut qu'un seul le 9<sup>e</sup> jour, tandis



que le vaccin passé par l'organisme du lapin tuait tous ceux qui avaient été inoculés sous la peau, et dans un laps de temps beaucoup plus court.

Les conclusions qu'on peut tirer de toutes les expériences exposées sont les suivantes :

1° Il se produit dans l'organisme d'un animal peu sensible (lapin), un renforcement considérable du vaccin charbonneux, qui reprend les qualités du véritable virus charbonneux ;

2° Dans l'organisme d'un animal sensible (souris), le renforcement, lorsqu'il se produit, est beaucoup moins considérable et n'atteint jamais la force du virus ;

3° Le renforcement du vaccin ne peut pas être attribué exclusivement à la sélection des bactéridies les plus fortes. Il doit être attribué aussi à un renforcement fonctionnel de ce microbe.

---

# LES

## GLOBULES BLANCS COMME PROTECTEURS DU SANG

PAR M. LE DR WERIGO.

---

Ce travail est sorti d'une observation fortuite. En examinant au microscope le sang d'un lapin qui avait reçu, quelques minutes auparavant, dans la veine de l'oreille, plusieurs centimètres cubes d'une culture de *bacillus prodigiosus*, je fus étonné de trouver son sang presque privé de globules blancs. En répétant cette expérience et en examinant le sang avant et après l'injection, je me suis convaincu que la diminution des globules blancs est un fait constant. Pour prouver cela d'une manière plus précise, j'ai entrepris une série d'expériences, où j'injectais dans le sang des cultures de différentes bactéries et comptais les globules par la méthode de Hayem. Quand le fait de la diminution de la quantité des globules blancs fut complètement démontré, j'essayai de rechercher ces globules dans le foie et la rate des lapins injectés. Ce travail se trouve donc divisé en deux parties. Dans la première, j'exposerai les résultats de la numération des leucocytes chez les lapins qui ont reçu dans le sang différentes injections; dans la seconde je décrirai les résultats de l'examen microscopique des organes.

Ce travail a été fait à l'Institut Pasteur, dans le service de M. le professeur Metchnikoff. Je me fais un plaisir d'exprimer ici à ce savant ma sincère reconnaissance pour l'intérêt qu'il a pris à ces recherches, et pour ses conseils, qui m'ont été très précieux.



## I

VARIATIONS DE QUANTITÉ DES GLOBULES BLANCS APRÈS DIVERSES  
INJECTIONS

Comme je l'ai déjà dit, je comptais les globules blancs par la méthode de Hayem. Quoique cette méthode ne soit pas tout à fait exacte, je la trouvais suffisante pour mes expériences, où j'avais toujours affaire à des différences si considérables, que les inexactitudes provenant de la méthode ne pouvaient avoir aucune importance. Toutefois, pour les réduire le plus possible, je comptais toujours plus de carrés qu'on ne le fait généralement dans les examens cliniques : je comptais au moins 100 carrés et dans la plupart des cas jusqu'à 200. En même temps je comptais presque toujours la quantité des globules rouges pour trouver le rapport entre eux et les globules blancs. Je ne me bornais pas à compter les globules seulement une ou deux fois après l'injection, mais dans la plupart des cas je les comptais de temps en temps, soit jusqu'à la mort de l'animal, si les substances injectées étaient pour lui mortelles, soit pendant plusieurs jours, jusqu'à ce que l'animal revienne à son état normal.

Pour mes injections j'employais, comme je l'ai déjà dit, des cultures de diverses bactéries, qui sont les suivantes : *bacillus prodigiosus*, *bacillus pyocyaneus*, bactérie du choléra des porcs, bacille de la tuberculose et bactériidies charbonneuses. Cette liste comprend une espèce qu'on considère ordinairement comme tout à fait inoffensive : le *bacillus prodigiosus* ; des bactéries qui provoquent des maladies plus ou moins chroniques : les bactéries de la tuberculose et le *bacillus pyocyaneus*. Nous avons encore une bactérie qui provoque une maladie aiguë : la bactériidie charbonneuse. Enfin la bactérie du choléra des porcs donne une espèce de maladie des plus aiguës, et rapidement mortelle. Outre cela j'ai injecté encore des bactéries mortes, notamment le *bacillus prodigiosus* et le *bacillus pyocyaneus*, tués au préalable par la chaleur. Enfin j'ai injecté des substances tout à fait indifférentes, savoir une poudre très fine de carmin, diluée dans de l'eau et stérilisée dans l'autoclave.

Je décrirai à part les résultats obtenus avec chaque sorte d'injections.

A. *Bacillus prodigiosus*. — Les cultures injectées étaient des cultures dans le bouillon, âgées d'un mois environ. Elles contenaient une quantité tellement énorme de bactéries, qu'elles étaient troubles sous une épaisseur d'un demi-centimètre. Voici les résultats obtenus avec ces cultures.

Dans ce tableau et dans les tableaux pareils qu'on rencontrera dans la suite de ce mémoire, la 1<sup>re</sup> colonne, marquée G. R., donne le nombre des globules rouges par millimètre cube de sang; la 2<sup>e</sup> colonne, marquée G. B., donne le nombre de globules blancs par millimètre cube; la 3<sup>e</sup> colonne, marquée R., indique le nombre de globules blancs pour 100,000 globules rouges; enfin la 4<sup>e</sup> colonne, marquée P., donne la proportion des globules blancs aux diverses phases de l'expérience, par rapport à celle relevée au début, qui est considérée comme normale et représentée par 100.

	G. R.	G. B.	R.	P.
N <sup>o</sup> 1 { 16 h. avant l'injection. . . .	5,425,000	21,026	406	100
45 m. après inj. de 2 c.c. . .	5,735,000	6,340	111	27
4 h. 30 m. après. . . . .	5,518,000	6,646	120	30
45 m. après nouv. inj. de 4 c.c.	5,239,000	2,314	44	11
20 h. après, le lapin est trouvé mort)				
N <sup>o</sup> 2 { 4 h. 25 avant l'injection . . .	6,076,000	12,927	213	100
10 m. après inj. de 4 c. c. . .	6,200,000	3,500	57	27
(Le lendemain le lapin est trouvé mort)				
N <sup>o</sup> 3 { 4 h. 40 avant l'injection. . . .	4,805,000	12,590	262	100
10 m. après inj. de 4 c. c. . .	5,515,000	5,311	104	40
5 h. 25 après. . . . .	6,262,000	775	12	5
(Après 4 h. 40 le lapin est mort.)				
N <sup>o</sup> 4 { 5 m. avant l'injection. . . . .	6,448,000	26,453	410	100
45 m. après inj. de 5 c c . . .	6,107,000	11,311	185	45
2 h. 15 après. . . . .	6,479,000	9,416	146	35
2 h. 55 après. . . . .	6,169,000	3,822	62	15
2 h. après. . . . .	5,921,000	4,272	72	17
(Le lendemain le lapin est trouvé mort)				

L'injection des bactéries est donc suivie immédiatement



(après 10 à 15 minutes) d'une diminution considérable dans la quantité des globules blancs. Cette diminution va en augmentant jusqu'à la mort de l'animal, moment où le sang semble en être presque privé.

Dans ces expériences j'ai remarqué encore un fait, non signalé dans le tableau, et qui me semble mériter quelque attention. On sait que le sang contient des globules blancs différents. Outre les leucocytes mono- et polynucléaires, qui sont ordinairement plus grands que les globules rouges, il y a encore une quantité variable de petites cellules — de lymphocytes —, qui ont la grandeur des hématies, ou même qui sont encore plus petites. J'ai remarqué que ce sont surtout les globules de la première catégorie qui disparaissent du sang après l'injection; si, avant l'injection, ces globules constituent la majorité des globules blancs du sang, après l'injection au contraire ce sont les petits globules qui en forment la majorité. On ne peut les distinguer sûrement les uns des autres que par des méthodes de coloration que je ne pouvais employer, puisque j'examinais le sang frais. Sans viser à une précision absolue, j'ai néanmoins essayé de compter à part les gros globules ou leucocytes et les lymphocytes, et j'ai choisi pour cela l'expérience n° 4 du tableau précédent dans laquelle la quantité des lymphocytes était considérable.

		LEUCOCYTES par m. m. c.	LYMPHOCYTES par m. m. c.	Pourcentage des leucocyt.	Pourcentage des lymphocyt.
N° 4	5 m. avant injection. . . . .	17,773	8,680	100	100
	15 m. après inj. de 5 c. c. . .	3,355	7,960	19	92
	2 h. 15 après. . . . .	2,818	6,598	16	76
	2 h. 55 après. . . . .	425	3,597	2,4	39
	2 h. après. . . . .	356	3,916	2	45
(Le lendemain le lapin est trouvé mort)					

On voit nettement que les leucocytes ont disparu du sang en proportion beaucoup plus grande que les lymphocytes.

On considère ordinairement le *bacillus prodigiosus* comme une bactérie tout à fait inoffensive. Les expériences précédentes ne sont pas d'accord avec cette opinion. Tous les lapins qui ont reçu dans le sang plus de 2 c. c. de culture de cette bactérie sont morts au bout d'un temps relativement très court.

J'ai fait encore deux expériences avec le *bacillus prodigiosus* mort. Pour cela j'ai chauffé à 120°, dans l'autoclave, une culture âgée de 12 jours, et je l'ai laissée reposer pendant plusieurs jours. Il s'est formé un dépôt de bactéries mortes qui, dilué avec un peu d'eau stérilisée, m'a servi pour les expériences resumées dans le tableau suivant.

		G. R.	G. B.	P. R.	P. B.
N <sup>o</sup> 6	1 h. 30 m. avant injection. . .	7,006,000	20,307	290	100
	20 m. après injection de 4 c. c.	6,538,000	4,983	76	26
	1 h. 50 m. après. . . . .	—	1,060	—	5, 2
	17 h. 55 m. après. . . . .	—	21,387	—	120
	21 h. 5 m. après. . . . .	—	21,405	—	105
	Le lapin reste bien portant.				
N <sup>o</sup> 7	1 h. 12 m. avant injection. . .	6,262,000	7,896	126	100
	18 m. après injection de 5 c. c.	6,510,000	3,686	57	45
	1 h. 53. m. après. . . . .	—	2,020	—	33
	16 h. 40 m. après. . . . .	—	26,940	—	341
	7 h. 40 m. après. . . . .	—	10,135	—	128
	21 h. 45 m. après. . . . .	5,528,000	7,569	130	103
	Le lapin reste bien portant. .				

Ici, je n'ai pas toujours compte les globules rouges, et je n'ai par suite pas pu établir partout le rapport entre la quantité des globules rouges et blancs. Je me suis borné à calculer le rapport entre le nombre des globules blancs à divers intervalles et celui que j'avais trouvé avant l'injection.

Nous voyons, par le tableau, que l'injection de la culture morte est aussi suivie immédiatement d'une diminution considérable dans la quantité des globules blancs. Après quelque temps, cette diminution est remplacée par une augmentation passagère plus ou moins prononcée (leucocytose), après quoi la quantité des globules redevient normale.

B. *Bacillus pyocyaneus*. — J'ai employé pour les injections soit les cultures dans du bouillon âgées d'un mois, comme les précédentes, soit des cultures toutes jeunes, âgées seulement de 3 ou 4 jours, et ensemencées avec du sang des lapins morts de la maladie pyocyaneque. Voici les résultats que j'ai obtenus :



	G. R.	G. R.	R.	P.
N° 8	2 h. 50 m. avant injection. . . . .	5,515,000	12,147	237
	1 h. 50 m. après inj. de 2 <sup>cc</sup> 5 de jeune culture. . . . .	—	2,175	—
	16 h. 15 m. après . . . . .	—	11,421	—
	6 h. 20 m. après . . . . .	—	19,921	—
	19 h. 10 m. après . . . . .	—	9,128	—
	Le lapin est sain et employé le lendemain pour l'exp. suiv.			
N° 9	55 m. avant injection . . . . .	4,684,000	15,810	338
	17 m. après inj. de 6 c. c. de jeune culture. . . . .	4,278,000	2,480	58
	23 h. 15 m. après. . . . .	5,673,000	52,080	918
	10 h. après . . . . .	—	15,190	—
	13 h. 30 après. . . . .	—	17,360	—
	Le lapin est resté sain.			
N° 10	30 m. avant injection. . . . .	6,076,000	15,500	255
	15 m. ap. inj. de 3 c. c. de jeune culture. . . . .	—	1,880	—
	15 h. 50 m. après . . . . .	—	25,894	—
	6 h. 10 m. après . . . . .	—	23,537	—
	23 h. 50 m. après. . . . .	—	17,050	—
	Le lapin reste sain.			
N° 11	1 h. 15 m. avant injection. . . . .	6,758,000	9,182	136
	15 m. après inj. de 6 c. c. de vieille culture. . . . .	6,386,000	1,699	27
	19 h. 10 m. après . . . . .	5,611,000	1,274	22
	20 h. 55 m. après. . . . .	7,333,000	13,696	182
	Le lend. le lapin est trouvé mort. Dans le sang du cœur :	9,641,000	2,657	28
N° 12	55 m. avant injection. . . . .	5,828,000	15,491	266
	15 m. après injec. de 5 c. c. de culture vieille. . . . .	5,642,000	4,248	75
	6 h. 30 m. après . . . . .	5,456,000	4,306	79
	24 h. 30 m. après . . . . .	4,650,000	5,886	126
	18 h. 45 m. après. . . . .	4,309,000	18,573	431
	5 h. 45 m. après. . . . .	5,115,000	36,021	704
	14 h. 50 m. après. . . . .	4,867,000	55,942	1,149
	8 h. 35 m. après. . . . .	—	56,833	—
	25 h. après. . . . .	—	55,111	—
	23 h. ap. le lapin est très malade.	—	20,000	—
	Le lend. le lapin est trouvé mort. Dans le sang du cœur :	—	6,300	—

Dans une des expériences précédentes (n° 12) j'ai compté à part les leucocytes et les lymphocytes, comme je l'ai fait avec le *bacillus prodigiosus*. Le résultat que j'ai obtenu est le même : les leucocytes disparaissent plus vite et en quantité plus considérable que les lymphocytes. Voici les résultats de cette numération, faite seulement avant et immédiatement après l'injection :

	LEUCOCYTES par m. m. c.	LYMPHOCYTES par m. m. c.	Pourcentage des leucocyt.	Pourcentage des lymphocyt.
N° 13 { 55 m. avant injection.....	10,488	5,303	100	100
{ 15 m. après inj. de 5 c. c. de la culture vieille.....	4,148	3,100	12	60

Nous voyons par toutes ces expériences que le résultat direct de l'injection de la culture du *bacillus pyocyaneus* est le même que pour le *bacillus prodigiosus* ; il y a une diminution considérable de la quantité des globules blancs. Nous voyons aussi que cette diminution est un phénomène passager, qui cède la place à la leucocytose plus ou moins prononcée, laquelle à son tour ne dure pas longtemps et est suivie par une diminution ultérieure des globules. C'est pendant cette diminution que nous observons la guérison ou la mort de l'animal.

Comme avec le *bacillus prodigiosus*, j'ai fait aussi des injections de bactéries mortes. Pour cela j'ai stérilisé dans l'autoclave une culture de la bactérie pyocyane, âgée de 12 jours, et je l'ai laissée se déposer pendant plusieurs jours. Le dépôt des bactéries a été dilué dans de l'eau stérilisée et injecté dans la veine. Voici le résultat de mes deux expériences pareilles.

	G. R	G. B.	R	P
N° 14 { 1 h. 40 m. avant injection....	5,504,000	12,818	225	100
{ 15 m. après inj. de 4 c. c. des bactéries mortes.....	5,301,000	2,303	43	49, 5
{ 21 h. 5 m. après .....	—	25,380	—	198
{ 7 h. 15 m. après.....	4,991,000	10,333	207	92
{ Le lapin est sain.				
N° 13 { 50 m. avant injection.....	5,084,000	53,247	1,047	100
{ 40 m. après inj. de 4 c. c. des bactéries mortes.....	—	12,012	—	22



Dans la dernière expérience, la quantité des globules blancs avant l'injection dépasse de beaucoup la quantité normale d'un lapin sain : c'est que cette expérience n'est qu'une partie d'une autre, que nous allons retrouver sous le n° 16, et dans laquelle j'avais provoqué artificiellement une leucocytose bien prononcée.

Nous voyons que le résultat de l'injection des bactéries mortes est le même que dans les expériences précédentes ; il y a une diminution considérable de la quantité des globules blancs, diminution suivie d'une leucocytose passagère.

J'ai fait encore quelques expériences sur l'injection d'une culture filtrée au moyen du filtre de Chamberland. Cette culture était âgée d'un mois environ. Voici les résultats de ces expériences :

	G. R.	G. B.	R	P
N° 16				
50 m. avant injection.....	4,867,000	15,500	318	400
22 m. après inj. de 4 c. c. de la culture filtrée.....	5,363,000	26,461	488	453
5 h. 5 m. ap. (nouv. inj. de 4 c. c.)	—	62,696	—	404
16 h. 50 m. après.....	5,084,000	53,247	1,047	329
50 m. ap. (nouv. inj. de 4 c. c. de bactéries mortes).....	—	—	—	—
40 m. après injection.....	—	12,012	—	77
5 h. 55 m. après.....	—	50,840	—	328
25 h. après.....	—	35,030	—	226
19 h. 30 m. après.....	5,022,000	12,300	245	77
Le lapin reste sain.				
N° 17				
15 m. avant injection.....	6,331,000	8,060	129	400
30 m. après inj. de 8 c. c. de la culture filtrée.....	5,456,000	13,307	244	189
2 h. 35 m. après.....	—	29,740	—	369
15 h. 40 m. après (nouv. inj. de 4 c. c.).....	—	—	—	—
4 h. 15 m. après.....	6,231,000	29,760	477	369
19 h. 50 m. après.....	5,580,000	12,400	222	170
Le lapin est sain.				

L'injection de la culture filtrée ne provoque donc pas de diminution dans la quantité des globules blancs. Tout au contraire, nous trouvons une augmentation, qui est bien prononcée déjà une demi-heure après l'injection, et qui peut atteindre un

chiffre très élevé, surtout si on répète les injections plusieurs fois.

C. *Bactéries du choléra des porcs*. Pendant que je faisais ces expériences, M. Metchnikoff expérimentait avec les bactéries du choléra des porcs. Il eut l'obligeance de me laisser faire quelques expériences sur ses lapins ayant reçu dans la veine du sang provenant de pigeons morts du choléra. Voici les résultats que j'ai ici obtenus :

		G. R.	G. B.	R.	P.
N <sup>o</sup> 18	15 m. avant injection.....	6,138,000	8,921	145	100
	25 m. après injection.....	5,952,000	5,175	87	60
	3 h. 40 m. après.....	6,231,000	1,845	30	20
	Le lapin est trouvé mort 15 m. après.				
N <sup>o</sup> 19	5 m. avant injection.....	6,324,000	9,100	144	100
	35 m. après injection.....	5,797,000	3,870	67	46.5
	3 h. 50 m. après.....	6,231,000	1,570	25	17
	Le lapin est trouvé mort 2 h. 20 m. après.				

Donc les bactéries du choléra des porcs provoquent aussi une diminution des globules blancs, qui dure ici progressivement jusqu'à la mort.

D. *Bactéries de la tuberculose aviaire*. — Avec ces bactéries je n'ai fait qu'une seule expérience en comptant les globules avant et après injection d'une quantité relativement petite (3 centimètres cubes d'un liquide à peine opalescent) de culture sur gélose, diluée dans de l'eau stérilisée. Cette expérience m'a donné aussi une diminution prononcée de la quantité des globules blancs.

		G. R.	G. B.	R.	P.
N <sup>o</sup> 20	10 m. avant injection ...	5,859,000	8,320	142	100
	40 m. après injection ...	5,580,000	4,500	81	57



E. *Bactéries du charbon.* — Toutes mes expériences, avec ces bactéries, se rapportent exclusivement aux premiers moments après les injections. Le liquide était une culture sur bouillon, âgée d'un ou deux jours. Le résultat est encore ici une diminution de la quantité des globules blancs, comme cela est démontré dans le tableau suivant.

	G. R.	G. B.	R.	P.
N° 21 { 1 h. 40 avant injection..... { 20 m. après inject. de 4 c. c..	5,022,000 —	9,300 3,100	183 —	100 33
N° 22 { 55 m. avant injection..... { 25 m. après inject. de 6 c. c..	4,588,000 5,146,000	9,300 4,960	203 96	100 47
N° 23 { 20 m. avant injection..... { 7 m. après inject. de 12 c. c..	5,704,000 5,567,000	11,470 3,410	201 61	100 30
N° 24 { 20 m. avant injection..... { 17 m. après inject. de 12 c. c..	6,448,000 6,479,000	8,370 3,440	130 53	100 41
N° 25 { 15 m. avant injection..... { 7 m. après inject. de 12 c. c..	— —	6,200 2,790	— —	100 45

F. *Carmin.* — J'employais pour ces expériences une poudre très fine de carmin, diluée dans de l'eau et stérilisée dans l'autoclave. Les résultats, que j'ai obtenus ici, sont les mêmes qu'auparavant avec une seule différence, c'est que la quantité des globules blancs, après la diminution qui suit l'injection, redevient normale sans leucocytose intermédiaire. Voici les résultats.

		G. R.	G. B.	R.	P.
N° 26	1 h. avant injection.....	4,960,000	7,348	148	100
	15 m. après inject. de 4,5 c. c.	4,991,000	2,183	44	30
N° 27	15 m. avant injection.....	5,766,000	15,500	269	100
	20 m. après inject. de 4 c. c.	5,022,000	3,139	62	23
N° 28	12 m. avant injection.....	4,464,000	6,296	141	100
	3 h. 10 après inject. de 4 c. c.	5,115,000	1,913	37	26
N° 29	1 h. 10 m. avant l'injection.	6,355,000	8,166	129	100
	20 m. après inject. de 4 c. c.	6,231,000	3,014	48	37
	2 h. 35 m. après.....	6,076,000	1,569	26	20
	2 h. 45 m. après.....	6,402,000	2,913	46	36
	23 h. après.....	6,231,000	5,500	88	69
	28 h. 25 m. après.....	—	7,530	—	92
N° 30	16 h. 45 m. après.....	6,200,000	7,692	124	96
	47 m. avant injection.....	5,921,000	20,848	352	100
	15 m. après inject. de 6 c. c.	5,456,000	2,716	50	14
	16 h. 20 m. après.....	4,495,000	12,315	274	78
	23 h. 40 après.....	5,859,000	17,599	300	85
N° 31	23 h. 15 m. après.....	5,704,000	15,330	269	76
	20 m. avant injection.....	5,123,000	10,132	198	100
	15 m. après inject. de 4 c. c.	5,394,000	2,861	53	27
	5 h. 15 m. après.....	—	10,986	—	108
	18 h. 20 m. après.....	—	10,070	—	99
	23 h. 5 m. après.....	—	11,452	—	112
	29 h. 10 m. après.....	—	10,036	—	99

Maintenant que nous avons donné le détail de nos essais de numération des globules, essayons de résumer et, s'il est possible, d'expliquer les résultats obtenus.

*L'influence des injections de bactéries ou de matières colorantes se manifeste en général par deux faits principaux : par une diminution immédiate et très considérable des globules blancs, et par leur augmentation secondaire (leucocytose), qui peut dans certains cas être aussi très prononcée. Tandis que la diminution des globules blancs est un phénomène complètement constant et n'admet aucune exception, la leucocytose consécutive ne s'observe qu'après les injections*



*des bactéries (vivantes ou mortes), et seulement dans les cas où l'animal survit à l'injection pendant un temps plus ou moins long.*

Voilà le court résumé des faits que j'ai observés. Si nous cherchons à les expliquer, nous viserons tout de suite la leucocytose. A quoi est-elle due? Nous trouvons là-dessus quelques renseignements dans nos expériences, notamment dans les expériences n<sup>os</sup> 16 et 17, où une leucocytose a été provoquée par des injections de cultures filtrées. Si j'ajoute que M. Buchner <sup>1</sup> a déjà observé le même résultat après des injections de produits bactériens, et qu'après des injections de substances indifférentes comme le carmin, nous n'avons obtenu aucune trace de ce phénomène, nous ne pouvons qu'attribuer la leucocytose à l'influence de certains produits bactériens chimiques, contenus dans le liquide injecté. Nos expériences ne nous disent pas quelles sont ces substances et comment elles provoquent la leucocytose. Mais nous croyons qu'elles agissent par *excitation chimique* et amènent ainsi une *production nouvelle de leucocytes*.

Cette supposition est nécessaire, parce que nous ne connaissons pas d'organes où les leucocytes (il s'agit ici de leucocytes polynucléaires) soient réunis en réserve pour pouvoir passer de là dans le sang. Où se produit cette formation nouvelle des leucocytes, cela reste inconnu; c'est une question pour la solution de laquelle il faudra encore beaucoup de recherches et dont nous ne nous occuperons pas ici davantage. D'après M. Roemer<sup>2</sup>, dans ces conditions, les leucocytes se multiplient dans le sang même, par voie directe et indirecte.

L'objet principal de notre travail, c'est la solution d'une autre question, celle de la disparition immédiate de la plupart des leucocytes après injection.

Les expériences précédentes ne nous permettent pas de la résoudre complètement, mais elles nous mettent sur le chemin d'une explication qui, très probable d'après nos connaissances actuelles, peut être facilement vérifiée par l'expérience.

Premièrement nous pouvons affirmer que la disparition des globules blancs est un effet mécanique. En effet nous avons vu qu'elle se fait toujours, et ne dépend guère ni des propriétés particulières des bactéries injectées, ni de leur état : elles peuvent

1. BUCHNER, *Berliner klin. Wochenschrift*, 1890, n<sup>o</sup> 47.

2. *Archives de Virchow*, 1892, t. 422, p. 98.

être plus ou moins virulentes, elles peuvent être vivantes ou mortes, elles peuvent même être remplacées par une substance inoffensive comme le carmin : dans tous les cas nous observons le même résultat. Au contraire, si nous injectons un liquide filtré, où il n'y a plus de particules insolubles, comme dans nos expériences 16 et 17, nous n'observons aucune trace de diminution de la quantité des leucocytes dans le sang. Il semble donc que, *pour provoquer la disparition des globules blancs, il est nécessaire et suffisant que le liquide injecté contienne en suspension des particules insolubles quelconques, qui, arrivant dans le sang, y agissent en quelque sorte mécaniquement sur les leucocytes.*

Quelle est leur manière d'action ? Pour donner une réponse plus ou moins probable à cette question, nous devons résumer en quelques mots nos connaissances actuelles au sujet du sort des bactéries injectées dans le sang.

On sait depuis longtemps que les bactéries injectées dans le sang disparaissent très vite, souvent même en quelques minutes comme le démontrent par exemple les expériences de M. Fodor.

Comment se produit cette disparition ? c'est ce qu'on ne sait pas bien encore. M. Fodor prétend que ce sont les propriétés bactéricides du sang qui amènent la mort des bactéries injectées et les empêchent de donner des cultures. M. Wyssokowitsch<sup>2</sup> attribue la disparition des bactéries à une cause tout à fait différente. Il a démontré que les bactéries injectées et disparues du sang peuvent être retrouvées dans les organes, et surtout dans le foie et la rate, où elles sont contenues dans les cellules endothéliales du foie et dans les cellules de la pulpe de la rate. Pour expliquer ces résultats, M. Wyssokowitsch suppose que le foie et la rate jouent ici le rôle d'un filtre, où, grâce à un grand ralentissement du courant sanguin, les bactéries se déposent mécaniquement et sont ensuite englobées par les cellules phagocytaires.

Ces explications soulèvent beaucoup d'objections. Avec celle de M. Fodor, on ne comprend pas pourquoi les bactéries tuées par le sang ne se retrouvent pas à l'examen microscopique. On sait pourtant que dans tous les cas où l'ensemencement ne les

1. Fodor. Die Fähigkeit des Blutes Bacterien zu vernichten. *Deutsche medizinische Wochenschrift*, 1887, n° 34.

2. Wyssokowitsch. *Zeitschrift für Hygiene*, B. I.



décède pas, on ne peut pas non plus les retrouver au microscope.

M. Wyssokowitsch ne nous dit pas, de son côté, comment les bactéries se déposent dans les organes<sup>1</sup>. Le ralentissement du courant sanguin ne peut guère expliquer ce phénomène, qui exige plusieurs jours pour se produire dans une culture laissée en repos, tandis que, d'après M. Wyssokowitsch, il doit se faire en quelques minutes dans le sang, qui est toujours agité, et dont le poids spécifique est en outre plus considérable que celui du liquide de la culture.

En mettant en regard, d'un côté, ce fait, si mal expliqué jusqu'ici, de la disparition des bactéries du sang, et de l'autre cette disparition simultanée des globules blancs, démontrée dans les pages précédentes, nous sommes conduits à supposer que *les globules blancs disparaissent du sang, parce qu'ils englobent les bactéries et les emportent dans les organes*. En effet, cette hypothèse explique non seulement la diminution immédiate de la quantité des globules blancs après l'injection, mais encore quelques faits très difficiles à comprendre autrement.

Il est bien connu que, dans beaucoup de maladies infectieuses, on ne peut trouver des bactéries dans le sang que dans les derniers stades de la maladie, si la maladie est mortelle, ou dans son acmé, si elle peut être guérie. Cela peut être très bien expliqué, en admettant que les globules blancs protègent le sang contre toute invasion de bactéries.

Avec le même point de vue, on peut aussi expliquer pourquoi on observe, presque dans toutes les maladies, les périodes de la leucocytose: l'organisme envahi par les bactéries cherche à se défendre par une formation de leucocytes.

Nous pouvons aussi expliquer certains détails de nos expériences. Dans celles qui portent les nos 1, 2, 3, 4, 18, 19, où les animaux ont succombé relativement très vite après les injections, nous pouvons remarquer que la leucocytose secondaire fait complètement défaut, et que la diminution de la quantité de globules blancs est progressive jusqu'à la mort. Cela peut être expliqué facilement par une rapide multiplication des bactéries, qui arrivent toujours dans le sang, et qui, emportées dans les organes

1. Au moment où M. Werigo a remis son mémoire à la rédaction des *Annales*, le travail de M. Wyssokowitsch dans les nos 11 et 12 des *Fortschritte der Medicin*, 1892, n'avait pas encore paru.  
N. D. L. R.

par les globules blancs, le privent petit à petit de ses protecteurs naturels. Le sang n'est envahi par les bactéries et l'animal ne meurt que lorsqu'il ne reste presque plus de globules blancs. On peut expliquer de même pourquoi, dans les cas d'une leucocytose bien prononcée, la quantité des globules blancs diminue rapidement avant la mort de l'animal, comme nous le voyons dans les expériences 11 et 12.

Notre hypothèse nous explique aussi pourquoi les leucocytes disparaissent du sang les premiers et en quantité plus grande que les lymphocytes, comme nous l'avons démontré par les expériences 5 et 13. Il est bien connu que les leucocytes surtout sont capables d'englober les corps étrangers, tandis que les lymphocytes ne possèdent pas cette faculté.

Cette hypothèse mérite donc d'être étudiée de plus près. C'est pourquoi j'ai cherché à la vérifier par un examen microscopique du foie et de la rate des lapins, qui avaient reçu dans la veine des injections différentes, et que je sacrifiais à divers intervalles après ces injections. Voici mes résultats.

## II

### ÉTUDE DU FOIE ET DE LA RATE DES LAPINS INJECTÉS

Mes expériences se rapportent aux substances suivantes, injectées dans le sang : carmin, cultures du premier vaccin charbonneux et de la bactériémie virulente. Pour l'examen microscopique j'ai employé exclusivement les coupes des organes, fixés dans un mélange de 1 d'acide chromique et 1,5 d'acide acétique pour 300 d'eau distillée et durcis dans l'alcool.

#### A. — *Injections de carmin.*

Le sort des matières colorantes insolubles, injectées dans le sang, a été déjà depuis longtemps étudié (Ponfick<sup>1</sup>, Hoffmann et Langerhans<sup>2</sup>, Asch<sup>3</sup>, Siebel<sup>4</sup>, etc.). Nous savons, d'après ces

1. PONFICK. *Virchow's Archiv*, B. 48, p. 1-55.

2. HOFFMANN und LANGERNHANS, *Virchow's Arch.*, B. 48, p. 303-325.

3. Ueber die Ablagerung von Fett und Pigment in den Sternzellen der Leber. Bonn, 1884.

4. SIEBEL. *Virchow's Archiv*, B. 104, p. 514-531.

études, que ces matières ne restent pas dans le sang, mais se déposent dans quelques organes, surtout dans le foie et dans la rate, où elles sont englobées par les cellules phagocytaires, c'est-à-dire par les cellules endothéliales du foie et par les cellules de la pulpe de la rate. Nous avons vu que M. Wyssokowitsch avait retrouvé plus tard les mêmes faits au sujet des bactéries injectées. Outre cela, la plupart des auteurs ont trouvé que les globules blancs ne restent pas ici sans action; on a vu, notamment pendant les premières heures après injection dans le sang, surtout dans les vaisseaux du foie et de la rate, plusieurs globules contenant de la matière colorante. Mais on ne sait pas encore avec précision quel rôle jouent ces globules dans la fixation définitive des couleurs dans les organes.

Comme jusqu'à présent toutes les recherches microscopiques ont été faites relativement très tard après l'injection (dans la plupart des cas après plusieurs heures ou même plusieurs jours), et comme d'un autre côté nos expériences précédentes nous ont démontré que la disparition du sang des globules blancs se produit déjà au bout de quelques minutes, je ne pouvais espérer résoudre la question du rôle de ces globules qu'en examinant les organes des animaux le plus vite possible après injection. Pour ces études j'ai sacrifié 10 lapins, qui ont été tués 2, 4, 6, 7, 10, 15, 20, 30 minutes, 1 et 3 heures après l'injection<sup>1</sup>. Dans tous les cas, avant de tuer l'animal, je préparais tout ce qui était nécessaire pour le disséquer, de sorte que j'avais toujours des organes tout à fait frais (maximum une ou deux minutes après la mort, qui était provoquée soit par la section du bulbe, soit par un coup sur la nuque) et les plongeais immédiatement dans le liquide fixateur<sup>2</sup>. Pour l'examen microscopique j'employais toujours les plus fines coupes dans la paraffine, qui étaient colorées dans l'hématoxyline.

Je décrirai ici à part les faits que j'ai observés en examinant le foie et la rate.

1. Je dois remarquer que dans tous ces cas je comptais toujours le temps écoulé depuis le commencement de l'injection et non de la fin. Une injection exigeait en général 2 minutes environ, de sorte que dans la première des expériences que je viens de citer, le lapin a été tué immédiatement après l'injection.

2. Les organes des lapins qui ont été tués 10, 15 minutes, 1 et 3 heures après injections, étaient durcis dans l'alcool sans fixation préalable.



(a) *Le foie.* En examinant le foie du lapin, tué immédiatement (2 ou 4 minutes) après l'injection, nous trouvons que le tableau ordinaire du foie normal est changé. On observe surtout ce changement dans les vaisseaux capillaires, et notamment dans leurs cellules endothéliales. Ces cellules, dont le protoplasma n'est presque pas visible dans le foie normal, et dont la présence n'est marquée que par les noyaux, se distinguent à présent beaucoup mieux, de sorte qu'on peut dans plusieurs endroits bien observer leurs contours. Dans ces points on voit qu'elles sont un peu gonflées, et, en s'avancant dans la cavité des vaisseaux capillaires, les remplissent plus ou moins complètement. Elles poussent en outre des prolongements qui sont souvent très fins et très longs, et qui se dirigent le long des parois des vaisseaux. Les cellules, de même que leurs prolongements, contiennent plus ou moins de grains de carmin. Ce sont surtout ces grains qui rendent la cellule plus visible et permettent de mieux distinguer tous les détails.

La quantité de carmin contenue dans les cellules endothéliales n'est pas relativement grande. La plus grande partie de cette matière colorante est contenue dans les leucocytes mono-et polynucléaires, qui se trouvent en grande abondance dans les vaisseaux capillaires, où ils entrent en relation très intime avec les cellules endothéliales. Dans quelques cas, et notamment là où les leucocytes remplissent complètement les vaisseaux, on ne peut pas bien déterminer ces relations. On voit seulement que la cavité du vaisseau est remplie d'une masse protoplasmique colorée en bleu clair, dans laquelle sont plongés, outre un ou deux noyaux des cellules endothéliales, plusieurs noyaux de leucocytes mono- et polynucléaires, sans qu'on voie les limites de toutes ces cellules. Cette masse protoplasmique se ramifie souvent et donne des prolongements dans les vaisseaux capillaires voisins. Les grains de carmin sont disséminés dans toute la masse, en se déposant en plus grande abondance autour des noyaux des leucocytes et d'une ou de quelques cellules endothéliales. Outre ces tableaux, dont les détails sont peu nets et dont la signification est très difficile à expliquer, on en voit d'autres, où les relations mutuelles des leucocytes et des cellules endothéliales sont beaucoup mieux prononcées. C'est surtout dans les points de la préparation où on voit relativement peu de

leucocytes, qu'on doit chercher ces tableaux. Les contours des cellules endothéliales et leurs prolongements sont ici mieux visibles, et on trouve souvent que ces prolongements sont liés tout à fait intimement avec les leucocytes, car leurs contours se continuent directement dans les contours des leucocytes, et les grains de carmin continuent sans interruption du leucocyte jusqu'à la cellule endothéliale; enfin on voit des leucocytes, tout à fait englobés par le corps de la cellule, dont le noyau est alors situé tout près des noyaux des leucocytes. Que nous ayons ici affaire à un englobement véritable, c'est ce que démontre dans certains cas la dislocation des noyaux du leucocyte, qui au lieu d'être réunis en un groupe, comme d'ordinaire, s'étendent en file l'un près de l'autre. En un mot, on trouve toutes les formes intermédiaires entre la cellule endothéliale, dont les prolongements adhèrent avec un ou plusieurs leucocytes, et les formes connues, pareilles aux cellules géantes, avec plusieurs leucocytes englobés.

Outre les leucocytes, unis d'une manière plus ou moins évidente avec les cellules endothéliales, on en voit aussi une quantité qui, chargés de carmin, sont tout à fait libres et se trouvent soit dans des vaisseaux capillaires, soit dans des vaisseaux interlobulaires, où ils forment quelquefois des trombus plus ou moins considérables. Dans les veines centrales les leucocytes chargés de carmin sont exceptionnels, tandis que les leucocytes vides sont plus ou moins abondants.

La quantité de carmin, qu'on trouve à l'état sûrement libre dans les divers vaisseaux, est médiocre en comparaison de celle qui est englobée par des cellules. On trouve d'ailleurs, sur plusieurs endroits de la préparation, du carmin dont l'état ne peut pas être bien défini par le microscope : les grains de couleur sont situés de manière qu'on ne peut pas dire s'ils sont englobés ou s'ils se trouvent seulement auprès des cellules. Mais la quantité de carmin à cet état incertain est aussi relativement petite, et nous ne nous tromperons pas beaucoup en admettant qu'il est aussi englobé, vu les proportions entre les quantités de carmin sûrement englobé et de carmin sûrement libre.

Nous nous sommes arrêtés longtemps sur la description des stades qui suivent immédiatement l'injection, à cause de leurs traits communs avec les stades plus éloignés. Ce sont surtout

les diverses formes de la relation mutuelle entre les leucocytes et les cellules endothéliales, qui se répètent dans tous les stades jusqu'à 15 minutes après l'injection, et qui forment pour ainsi dire le fond général de tous les tableaux. C'est pourquoi nous pouvons être courts dans les descriptions suivantes, en nous bornant seulement à signaler les différences qui existent entre les stades différents.

Des particularités importantes apparaissent dans les préparations des lapins, qui ont été tués 6 ou 7 minutes après l'injection. Déjà l'aspect macroscopique du foie est changé. Il est augmenté de volume, et saigne beaucoup pendant la dissection, ce qui prouve qu'il est fortement hyperémié. Dans les vaisseaux capillaires nous trouvons d'ailleurs au microscope en général presque les mêmes tableaux qu'auparavant. Toute la différence consiste en ce que les leucocytes contenant du carmin sont devenus beaucoup plus nombreux. On peut ajouter encore que les cellules endothéliales contiennent plus de carmin que dans les stades précédents. Quelquefois on trouve des cellules tout à fait remplies de couleur, de sorte que les noyaux ne sont presque pas visibles. Mais la plus grande différence s'observe dans les vaisseaux interlobulaires et dans les rameaux plus grands de la veine porte, d'où proviennent ces vaisseaux. On rencontre ici souvent de grands trombus, composés de leucocytes mono- et polynucléaires, trombus qui, commençant dans les rameaux de la veine porte, se prolongent en se ramifiant dans les vaisseaux interlobulaires. Dans toute la masse de ces trombus, où les contours des leucocytes individuels sont dans la plupart des cas peu visibles, les grains du carmin sont disséminés en grande abondance, entourant surtout les noyaux des leucocytes. Pour se faire une idée de la quantité de leucocytes qui sont contenus dans ces trombus, il suffira de signaler qu'il n'est pas rare d'en trouver contenant plusieurs centaines de leucocytes. Il y en a toujours quelques-uns sur chaque coupe. Outre ces grands trombus, on en rencontre de petits qu'on trouve presque dans chaque champ visuel, et qui remplissent les vaisseaux interlobulaires. En un mot, la présence de ces trombus est le fait le plus caractéristique pour le stade que nous venons de décrire. Quant au carmin sûrement libre, nous n'en retrouvons que de faibles quantités.



Les coupes du foie des lapins, tués 10 et 15 minutes après injection, diffèrent des tableaux précédents en ce qu'on ne trouve à présent que relativement peu de trombus dans les grands vaisseaux. Ces trombus sont pour ainsi dire rélégués dans les vaisseaux interlobulaires, qui sont dans plusieurs endroits tout à fait bouchés. Outre cela on trouve dans les vaisseaux capillaires une quantité de leucocytes mono- et polynucléaires, qui semblent être complètement libres et qui ne contiennent plus de carmin. Des leucocytes sans carmin se trouvent souvent aussi dans les veines centrales. Les cellules endothéliales contiennent encore plus de couleur que dans les stades précédents.

Les préparations des foies des lapins, tués 20, 30 minutes, 1 et 3 heures après l'injection, m'ont donné des tableaux presque tous identiques, et qui correspondent très bien à ce qu'on connaît jusqu'ici à ce sujet. Les diverses formes de la relation naturelle entre les leucocytes et les cellules endothéliales, formes qu'on trouve en grande abondance dans tous les stades précédents, sont devenues rares. Presque tout le carmin est contenu dans les cellules endothéliales, qui sont très visibles avec leurs prolongements, parce que tout est rempli de matières colorantes. On trouve aussi des leucocytes qui contiennent du carmin, mais leur quantité est insignifiante au regard de celle que nous avons vue dans les préparations précédentes. En un mot, ce sont les tableaux décrits par tous ceux qui ont étudié de près le foie des animaux après des injections colorées.

Il est à peine nécessaire de dire que toutes nos descriptions ont été faites d'après les caractères les plus prononcés de chaque stade, et ne sont que des descriptions schématiques. Dans la réalité les stades ne sont pas si bien distingués les uns des autres : en cherchant bien on peut trouver presque sur chaque coupe tous les tableaux qui correspondent aux stades différents. Mais pour trouver ces tableaux exceptionnels on doit toujours chercher plus ou moins longtemps, tandis qu'on rencontre en abondance les traits généraux que je viens de décrire.

Nous pouvons à présent nous demander comment tous ces faits doivent être expliqués.

D'abord nous devons considérer comme prouvé que les cellules endothéliales peuvent englober le carmin qui traverse

le foie avec le courant du sang, grâce à leurs mouvements actifs, opinion à présent presque généralement admise. En effet, dans tous les stades qui suivent immédiatement l'injection, nous voyons très distinctement les indices de leurs mouvements, qui se traduisent dans leurs formes ramifiées et irrégulières, pourvues de longs prolongements, qui sont si caractéristiques pour ces stades et qu'on n'observe presque pas du tout à l'état normal. C'est pourquoi si nous trouvons dans ces stades le carmin dans les cellules endothéliales, nous pouvons être assurés qu'il a été englobé directement par les cellules. Toutefois cet englobement direct ne peut avoir qu'une importance secondaire, et la plus grande partie du carmin, trouvé dans les cellules endothéliales dans les stades plus éloignés, doit y arriver par un procédé tout à fait différent.

Nous avons vu, en effet, que dans les premiers stades après les injections (jusqu'à 10-15 minutes), le carmin est surtout contenu dans les leucocytes, qui se trouvent en grande abondance dans les vaisseaux capillaires et intrafolliculaires; que plus tard (depuis 20 minutes) les leucocytes chargés de carmin disparaissent et que ce sont surtout les cellules endothéliales qui contiennent cette matière colorante. Comme les leucocytes ne peuvent s'éloigner que dans la direction du courant sanguin, et comme nous ne trouvons que très rarement des leucocytes contenant du carmin dans les veines centrales, il ne nous reste qu'une explication possible, celle que *les leucocytes s'éloignent emportés par le courant du sang, après avoir transmis leur carmin aux cellules endothéliales dans les vaisseaux capillaires.*

Mais de quelle manière se produit cette transmission?

Il est évident que la transmission doit avoir lieu dans les vaisseaux capillaires, et par conséquent notre réponse à la question posée dépend de la manière dont nous envisagerons les tableaux microscopiques, que nous trouvons dans ces vaisseaux, et que nous avons décrits en détail auparavant.

Le plus simple et le plus d'accord avec les faits est d'admettre que *toutes les formes décrites de la relation mutuelle entre les leucocytes et les cellules endothéliales sont des formes différentes de la réunion de ces deux espèces des cellules.* Cette hypothèse ne peut pas être complètement prouvée par les tableaux microscopiques, mais elle est toutefois en harmonie avec eux.

En l'admettant, le processus de la transmission du carmin devient bien compréhensible. Les leucocytes, réunis avec les cellules endothéliales en une masse protoplasmique, se déchargent de leur carmin grâce aux mouvements moléculaires de leur protoplasma, sortent de là vides, et sont emportés par le courant du sang dans les veines centrales. Au fur et à mesure que les leucocytes sortent vides, les autres sont englobés à leur tour, etc., jusqu'à ce que tout le carmin ne soit transmis aux cellules endothéliales.

Le fait principal de la transmission du carmin étant ainsi compris, nous pouvons essayer de tracer d'une manière plus détaillée les phénomènes qui se produisent après l'injection. Nous nous bornerons ici à les représenter comme nous les concevons d'après nos recherches, en laissant au lecteur à juger si nos idées sont d'accord avec les faits que nous avons décrits dans les pages précédentes.

Quand le carmin est injecté dans le sang, les leucocytes commencent tout de suite à l'englober, ce qui se produit avec une rapidité extrême, dont on n'avait jusqu'à présent aucune idée. En même temps les cellules endothéliales du foie passent en état d'activité, poussent des prolongements et englobent toutes les particules du carmin qui viennent à leur contact. Mais la quantité de carmin qu'elles englobent de cette manière ne peut être grande, parce que d'un côté une quantité considérable de cette substance est déjà englobée par des leucocytes, et d'un autre, parce que les petites particules du carmin qui, d'après les lois hydrodynamiques, doivent être situées au milieu du courant du sang, peuvent très facilement se glisser le long des vaisseaux capillaires sans entrer en contact avec les cellules endothéliales. C'est pourquoi nous ne trouvons que relativement peu de carmin libre, même dans les stades qui suivent immédiatement l'injection (par exemple deux minutes après) : le carmin englobé soit par les cellules endothéliales, soit par les leucocytes, reste en place et s'accumule de plus en plus, tandis que le carmin libre traverse sans obstacle le foie et ne peut y exister qu'en quantité correspondante à sa dilution dans le sang. Mais si les cellules endothéliales laissent le carmin libre traverser les vaisseaux, elles ne laissent pas passer les leucocytes chargés de carmin : elles les englobent et forment les



grandes cellules avec une quantité considérable de protoplasma, qui remplissent quelquefois entièrement ou presque entièrement la cavité des vaisseaux capillaires. Les leucocytes vides semblent très bien traverser les vaisseaux ; on en trouve toujours dans les veines centrales, même dans les premiers stades après l'injection, où il est très difficile de les considérer comme déjà déchargés de leur carmin. C'est pourquoi il me semble très probable que, dans l'englobement mentionné, les deux espèces de cellules (les cellules endothéliales et les leucocytes) jouent un rôle actif, c'est-à-dire que les leucocytes contenant du carmin tendent à s'arrêter auprès des cellules endothéliales et à se coller avec elles, ce qui doit beaucoup faciliter leur englobement.

Comme le procès d'englobement du carmin dans le sang par des leucocytes se poursuit jusqu'à ce qu'il soit terminé, les leucocytes chargés de carmin doivent devenir de plus en plus nombreux dans le foie. Leur affluence est facilitée par une dilatation considérable des vaisseaux du foie, survenant relativement vite après l'injection. Mais comme les vaisseaux capillaires sont déjà sur plusieurs points bouchés par des cellules endothéliales gonflées par l'englobement des leucocytes, les leucocytes, qui viennent plus tard dans le foie, doivent s'arrêter dans les vaisseaux interlobulaires, où ils forment des trombus plus ou moins considérables. Ces trombus grandissent peu à peu, mais leur accroissement doit avoir une limite. Les leucocytes englobés par des cellules endothéliales se déchargent peu à peu de leur carmin, deviennent libres, et, en s'éloignant dans les veines centrales, cèdent leur place aux autres, qui se trouvaient jusque-là dans des vaisseaux interlobulaires. Ainsi les trombus en s'accroissant de leur côté tourné vers les ramifications de la veine porte, se réduisent du côté tourné vers les vaisseaux capillaires. Dans les premiers stades, où l'affluence des leucocytes chargés de carmin est la plus considérable, l'accroissement va plus vite que la diminution, et nous voyons que les trombus deviennent de plus en plus massifs, et atteignent leur maximum quelque temps après l'injection. Ce maximum était atteint dans nos expériences, au bout de 6 à 7 minutes, c'est-à-dire que la quantité des leucocytes qui se dirigeaient dans ce stade vers le foie, était égale à celle qui devenait libre dans les vaisseaux capillaires. Depuis ce moment, les trombus doivent diminuer, et, après

quelque temps (20 minutes dans nos expériences), ils doivent disparaître plus ou moins complètement. En même temps tout le carmin, qui était contenu dans les leucocytes, doit être transmis aux cellules endothéliales.

Dans cette conception, on s'explique que le temps d'évolution des stades différents dans mes expériences n'ait aucune signification absolue. Tout dépend de la quantité de la matière injectée, ainsi que de la quantité des leucocytes dans le sang, laquelle, on le sait, peut subir des variations considérables. On s'explique aussi bien que les tableaux, observés sur différents points de la préparation, puissent différer considérablement selon les conditions locales de la circulation du sang.

Je finis par ces remarques tout ce que je voulais dire au sujet des phénomènes produits dans le foie, et je décrirai maintenant ce que j'ai observé dans la rate.

(b) *La rate.* — Les phénomènes qu'on observe dans la rate sont beaucoup moins compliqués que dans le foie. Je peux dire que les tableaux que j'ai obtenus avec la rate de mes 10 lapins sacrifiés pour cette étude sont presque les mêmes. C'est pourquoi je peux les décrire ensemble, en signalant seulement les quelques différences que j'ai observées dans des stades différents.

Le fait principal, qui est complètement constant et qui m'a beaucoup étonné, c'est que la quantité de carmin contenu dans la rate est presque insignifiante en comparaison de celle qu'on trouve dans le foie des mêmes animaux. On admet en général que le foie et la rate jouissent de la même propriété de retenir les matières colorantes, injectées dans le sang. Au moins je n'ai pas trouvé, dans la littérature, d'indications sur l'existence d'une pareille différence. A quoi attribuer cette contradiction, je ne peux pas le dire tout à fait sûrement, mais c'est une question que nous retrouverons tout à l'heure.

En ce qui concerne l'état dans lequel on trouve le carmin, nous voyons que la plus grande partie est englobée par les grandes et petites cellules de la pulpe. On trouve encore entre ces cellules du carmin, qui semble être libre, quoiqu'il soit difficile d'affirmer cela, parce que le protoplasma des cellules de la pulpe est toujours très mal contouré : il est possible que la couleur soit aussi englobée dans ces cas. Une partie du carmin

se trouve dans les vaisseaux, soit libre, soit englobée par ces petites cellules rondes mononucléaires, qui sont toujours en abondance dans des vaisseaux de la rate, et qui ressemblent tout à fait aux petites cellules de la pulpe. On peut parfois observer que ces cellules chargées de carmin sont collées aux parois des vaisseaux. Enfin une partie du carmin se trouve dans des leucocytes qui, dans les premiers stades après l'injection, ne sont pas rares dans les vaisseaux de la pulpe; ils forment même quelquefois des groupes contenant plusieurs individus. Mais leur quantité est très petite, en comparaison de celle qu'on trouve dans le foie. On trouve des leucocytes chargés de carmin, comme je viens de le dire, seulement dans les premiers stades après l'injection (jusqu'à 20 minutes). Leur quantité croît un peu d'abord, atteint un maximum (7 à 10 minutes après l'injection) et diminue ensuite, de sorte que 20 minutes après l'injection ils deviennent déjà rares, et au delà de ce temps ils ne peuvent presque plus être retrouvés. Les leucocytes restent toujours dans les vaisseaux, leurs contours sont bien marqués, et on ne peut trouver aucune trace d'une réunion des leucocytes avec des cellules quelconques de la rate.

Voici tout ce que je peux dire d'essentiel au sujet des tableaux microscopiques observés dans la rate. L'explication de ces faits, qui me semble être la plus simple, est la suivante.

*Les leucocytes ne prennent aucune part à la rétention du carmin dans la rate.* Ces leucocytes, qu'on rencontre dans les vaisseaux, peuvent être considérés comme se trouvant là seulement en passage. Peut-être, grâce au ralentissement du courant du sang qui, comme nous le verrons tout de suite, doit être admis ici, ils s'arrêtent pour quelque temps et forment çà et là des groupes plus ou moins nombreux. Mais ils ne transmettent pas leur carmin, ce qui est prouvé par l'absence complète de relations plus ou moins intimes des leucocytes avec les cellules de la rate. Déjà relativement tôt (20 minutes après injection) ils disparaissent complètement de la rate, probablement emportés par le courant du sang. *Tout le carmin, qui se trouve dans la rate, est englobé par les cellules de la rate même.* Comment se produit cet englobement? nous ne pouvons pas le dire d'après les tableaux microscopiques. Mais si nous admettons l'opinion très répandue



que les vaisseaux de la rate n'ont pas de parois continues, et que le sang baigne librement tous les éléments de la pulpe, il ne nous sera pas difficile de comprendre que les cellules de la pulpe peuvent englober directement le carmin qui entre en contact avec elles.

Je dois faire encore quelques remarques visant à expliquer pourquoi la quantité de carmin dans la rate est insignifiante en comparaison de celle qui se trouve dans le foie. Cela peut se comprendre en partie part tout ce que nous venons de dire. En effet, si les leucocytes ne prennent aucune part à la rétention du carmin dans la rate, nous devons y trouver moins de carmin que dans le foie, qui arrête le carmin englobé directement par les cellules endothéliales, et celui qui est transporté par des leucocytes. Mais cette explication ne me semble pas suffisante, parce que tout ce que la rate perd en comparaison avec le foie, grâce à l'absence de la transmission du carmin par des leucocytes, elle peut le gagner grâce à un nombre beaucoup plus grand de phagocytes, qui entrent dans sa composition. Il me semble qu'il y a ici encore une cause : c'est notamment la contraction considérable des vaisseaux de la rate. On peut facilement constater l'existence d'une pareille contraction, même d'après les résultats de l'examen microscopique de la rate des animaux, tués après injection. On trouve que la rate est ici très petite, et que ses vaisseaux ne contiennent que très peu de sang, qui ne s'écoule guère pendant la dissection, tandis que le foie, tout au contraire, est augmenté de volume et saigne très fortement. On observe ce fait le mieux possible dans les premiers stades après injection (jusqu'à 15 minutes), où la différence du foie et de la rate à ce sujet est véritablement frappante. On comprend que, grâce à cette contraction des vaisseaux, la quantité de sang et, par conséquent, la quantité de carmin qui passe au travers de la rate et est englobé par ses cellules, doit être plus ou moins diminuée.

#### B. — *Injections de bactéries.*

Comme je l'ai déjà dit au commencement de la seconde partie de ce mémoire, j'ai employé, pour les injections, des bactéries du premier vaccin du charbon et des bactéries du charbon même.

Les préparations étaient toujours colorées au préalable par le picrocarmin (dans la plupart des cas, outre ces préparations, j'en faisais encore d'autres, colorées avec l'hématoxyline) et ensuite par la méthode de Gram. Quoique les études se soient étendues jusqu'aux stades très éloignés, allant, avec la bactériodie charbonneuse, jusqu'à la mort de l'animal, je n'exposerai ici que les phénomènes qu'on observe immédiatement (jusqu'à 10 minutes) après l'injection, et je renvoie à un autre travail la description des faits qu'on observe dans les stades plus éloignés.

Pour les injections, j'employais toujours des cultures sur la gélose, tout à fait jeunes (âgées de moins de 24 heures), diluées dans du bouillon <sup>1</sup>. Je n'ai pas compté une seule fois le nombre des bactéries injectées. Mais pour donner au lecteur une idée à ce sujet, je décrirai ici le procédé de préparation de mes liquides pour injection. Pour augmenter le plus possible la surface de développement de mes bactéries, j'employais toujours, au lieu de tubes ordinaires à gélose, des tubes d'Esmarch, où la gélose couvrait d'une couche mince toute la surface intérieure du tube. Je les ensemçais avec un liquide très riche en bactéries, que j'obtenais en diluant dans du bouillon le contenu d'un autre tube, ensemencé au préalable d'une manière quelconque. J'employais une quantité de semence suffisante pour mouiller toute la surface de la gélose dans le tube d'Esmarch. Les tubes ainsi ensemencés restaient dans l'étuve de 16 à 22 heures. Après ce temps on trouve toute la surface de la gélose couverte d'une couche plus ou moins épaisse de culture. En versant dans le tube un peu de bouillon et en le secouant, j'obtenais un liquide très trouble, qui contenait beaucoup de bactéries. J'employais pour chaque injection le contenu de deux tubes pareils.

Les résultats que j'ai obtenus avec les bactéries virulentes du charbon et celles du premier vaccin sont complètement identiques, et je les décrirai ensemble. J'ai sacrifié, pour l'étude des phénomènes jusqu'à 10 minutes après l'injection, en tout 12 lapins, dont 5 ont servi à l'étude du vaccin et 7 à l'étude du charbon. Les lapins qui ont reçu les bactéries du vaccin, ont été tués 2 1/2, 5, 6, 7 1/2 et 10 minutes après l'injection. Les

1. Je n'employais pas des cultures en bouillon, parce que je voulais toujours avoir beaucoup de bactéries pour pouvoir les retrouver en abondance sur les coupes microscopiques.

lapins auxquels j'ai injecté les bactéries virulentes du charbon, ont été tués 2 1/2, 5, 6, 7, 7 1/2, 8 et 10 minutes après l'injection. J'examinais le foie et la rate dans tous les cas; dans quelques expériences avec les bactéries charbonneuses (notamment sur les lapins qui ont été tués 5 et 8 minutes après l'injection), j'ai ajouté encore l'examen des poumons. Je décrirai à part les faits que j'ai observés au sujet de tous ces organes.

*Le foie.* — Je peux être court dans la description des faits, car ceux que j'ai trouvés ici sont presque identiques avec ceux que j'ai décrits plus haut au sujet du carmin. Nous retrouvons les mêmes signes des mouvements actifs des cellules endothéliales, une aussi grande quantité de leucocytes chargés de bactéries, les mêmes relations entre les leucocytes et les cellules endothéliales, les mêmes trombus dans des vaisseaux interlobulaires, formés par l'agglomération des leucocytes, etc., etc. Je m'arrêterai seulement à quelques différences qu'on observe entre ces deux cas.

C'est notamment la rapidité tout à fait surprenante de l'englobement des bactéries injectées, sur laquelle je veux d'abord attirer l'attention des lecteurs. Cette rapidité est presque plus grande que celle de l'englobement du carmin. Déjà 2 minutes et demie après l'injection, nous trouvons dans le foie une grande quantité de bactéries, qui n'augmente plus tard que très peu. Cela nous permet de conclure que ce temps, si court, est pourtant suffisant pour que presque toutes les bactéries injectées soient englobées et transportées dans le foie. Il n'y a que peu de bactéries libres : la plupart sont englobées soit par les cellules endothéliales, soit par les leucocytes. Cette vitesse d'englobement peut être expliquée en partie par ce que les bactéries sont moins nombreuses que les grains de carmin, et peuvent alors être englobées dans un temps plus court. Mais il me semble qu'il intervient une autre cause. Quand nous décrirons les phénomènes produits dans la rate, nous serons conduits à admettre que les bactéries attirent les leucocytes, qu'elles provoquent pour ainsi dire une chimiotaxie positive. Cette attraction, si elle existe dans les organes, doit exister aussi dans le sang, et doit plus ou moins faciliter l'englobement des bactéries.

Voici encore deux différences entre les tableaux que je décris ici et ceux qui ont été obtenus après les injections de carmin.



La première consiste en ce que la quantité des bactéries, englobées par les cellules endothéliales, est beaucoup plus considérable que la quantité de carmin englobé par les mêmes cellules dans les stades correspondants de nos expériences précédentes. Si nous avons dit alors que la quantité de carmin dans les cellules endothéliales est dans les premiers stades tout à fait insignifiante en comparaison de celle englobée par les leucocytes, nous ne pouvons plus affirmer cela au sujet des bactéries. La quantité des bactéries, qu'on trouve dans les cellules endothéliales et dans les leucocytes, est presque la même, et si les leucocytes en contiennent peut-être un peu plus, la différence n'est pas toutefois si frappante. Nous pouvons nous expliquer cela, si nous considérons que les bactéries charbonneuses ont de plus grandes dimensions que les grains de carmin, et doivent par conséquent entrer plus facilement en contact avec les cellules endothéliales et être englobées par elles.

Une seconde différence, que je veux encore mentionner, se rapporte aux trombus, formés par l'afflux dans le foie des leucocytes chargés de bactéries. Ces trombus ne sont jamais si volumineux qu'après les injections de carmin : ils ne sont formés que par une quantité relativement petite de leucocytes (maximum une ou quelques dizaines). Cela s'explique aussi très bien, en considérant que le nombre des bactéries injectées n'était jamais dans mes expériences aussi grand que le nombre des grains du carmin.

*Les poumons.* — Les résultats que j'ai obtenus avec les poumons me font regretter de n'avoir pas fait un examen microscopique pareil sur tous mes animaux. Comme je l'ai déjà dit, j'ai examiné seulement les poumons de deux lapins, tués 5 et 8 minutes après injection. Les tableaux observés dans ces deux cas sont tout à fait identiques. Ils démontrent que les poumons jouent un rôle très important dans la rétention des bactéries injectées, peut-être presque aussi important que le foie. On trouve notamment tous les vaisseaux capillaires contenant un grand nombre de bactéries. Presque toutes les bactéries sont englobées par des leucocytes, sauf quelques agglomérations plus ou moins considérables, qui se trouvent çà et là et qui bouchent les vaisseaux capillaires. Ces agglomérations de bactéries,

qui préexistaient déjà probablement dans le liquide injecté, sont entourées sur toute leur surface par une muraille de leucocytes, dont plusieurs contiennent déjà des bactéries englobées.

L'explication probable de ces faits est que les bactéries injectées, surtout celles qui forment des agglomérations plus ou moins grandes, s'arrêtent dans les poumons, en traversant leurs vaisseaux capillaires, et sont englobées ici par les leucocytes, qui, attirés par les bactéries, les englobent sur place. Mais mes expériences à ce sujet ne sont pas encore suffisantes; elles doivent être répétées, et surtout il est nécessaire d'examiner de plus près les phénomènes immédiatement consécutifs à l'injection, dans les premières minutes ou peut-être même dans les premières secondes.

*La rate.* — Les tableaux microscopiques, qu'on voit dans la rate immédiatement après l'injection des bactéries (2 1/2 minutes) sont tout à fait identiques avec ceux qu'on trouve après les injections de carmin. On ne voit qu'une quantité relativement petite de bactéries, dont la plupart sont englobées par les cellules de la pulpe; quelques-unes sont englobées par les leucocytes, qu'on rencontre çà et là dans les vaisseaux; enfin quelques bactéries semblent être libres dans le tissu de la pulpe. Ces tableaux, qui correspondent complètement à ceux qui caractérisent tous les stades après injection de carmin, changent dans les stades plus éloignés. Ce changement est déjà bien marqué, même 5 minutes après l'injection, et plus tard il se manifeste de plus en plus. Nous voyons notamment que les vaisseaux de la rate qui, après injection de carmin, se trouvent dans un état de contraction plus ou moins marquée, sont ici largement dilatés et remplis par un grand nombre de leucocytes, qui sont en grande majorité vides (les leucocytes contenant des bactéries sont relativement rares). En même temps nous trouvons des leucocytes dans le tissu de la pulpe de la rate, qui sont ici soit isolés, soit assemblés en groupes contenant souvent une quantité de cellules assez considérable (plusieurs dizaines). Tous ces leucocytes se groupent autour de bactéries, et on peut trouver tous les stades intermédiaires entre les bactéries avoisinées seulement par quelques leucocytes isolés, et les grands assemblages de leucocytes entourant en masses serrées quelques

bactéries situées au milieu de groupes leucocytaires <sup>1</sup>.

Voilà les traits principaux de ce qu'on observe dans la rate. J'ai supprimé dans cette description beaucoup de détails, qui n'ont pour nous à présent aucune importance, et que je renvoie à un travail prochain, où je décrirai toute la marche de la maladie.

Il me semble que la meilleure explication des faits décrits ci-dessus est la suivante.

Immédiatement après l'injection de bactéries, les phénomènes qui se passent dans la rate sont les mêmes qu'après l'injection de carmin, c'est-à-dire que les bactéries qui circulent dans le sang de la rate sont englobées directement par les cellules phagocytaires de cet organe, sans que les leucocytes prennent une part importante à leur rétention. Mais, depuis le moment où les bactéries se trouvent dans le tissu de la rate et y sécrètent leurs poisons, ces derniers attirent les leucocytes passant par les vaisseaux de la rate, et les laissent s'arrêter et se diriger vers les bactéries. On doit aussi admettre que les produits bactériens exercent une certaine excitation sur les nerfs vasculaires de la rate, excitation qui provoque une dilatation des vaisseaux, et par conséquent une augmentation de la quantité de sang qui traverse cet organe. De cette manière, la quantité de leucocytes qui passent au travers de la rate est augmentée et, grâce à l'attraction exercée par les produits bactériens, les leucocytes se rassemblent de plus en plus dans le tissu de la rate.

En exposant les faits qu'on observe dans la rate après injection de carmin, nous avons laissé une question en suspens, pour laquelle nous avons renvoyé après l'étude des phénomènes correspondants dans le cas des bactéries. C'est la contradiction qui existe entre mes résultats et ceux des autres savants au sujet du rôle de la rate dans la rétention des matières colorantes injectées dans le sang. Tandis que les autres expérimentateurs assignent à la rate une des premières places dans cette rétention, j'ai trouvé, tout au contraire, que la quantité des matières injectées retenues par la rate est plus ou moins insignifiante, en

1. Ce que je viens de décrire doit être considéré comme une règle générale. Mais on rencontre quelquefois des exceptions. J'ai notamment trouvé, dans quelques cas, que la quantité de bactéries dans la rate était aussi grande que dans le foie. Dans ces cas les bactéries étaient en majorité englobées par des leucocytes, qui se trouvaient dans les vaisseaux de la rate. Nous verrons plus tard comment ces cas exceptionnels peuvent être expliqués.



comparaison avec celle que retient le foie. Il me semble que cette contradiction peut être expliquée, si nous considérons que presque toutes les expériences sur ce sujet ont été faites déjà depuis longtemps, à une époque où on ne connaissait pas encore la nécessité d'employer pour les injections des matières pures, c'est-à-dire stérilisées et privées de tous êtres vivants. Du moins je n'ai trouvé nulle part, même dans un article tout à fait récent (*Siebel*), aucune indication permettant de conclure qu'on stérilisait au préalable le liquide injecté. Or, si on injecte avec les matières colorantes une plus ou moins grande quantité de bactéries, celles-ci, nous l'avons vu, provoquent, relativement vite après l'injection, une dilatation plus ou moins prononcée des vaisseaux de la rate. Des lors, la quantité de matières injectées qui traverse cet organe et y est retenue, doit être aussi considérablement augmentée. Cette influence doit être d'autant plus sensible qu'on injecte plus de matière colorante, parce que celle-ci ne peut pas être retenue tout de suite par le foie, et il en doit rester encore beaucoup dans le sang au moment où la dilatation des vaisseaux de la rate est bien prononcée. Des expériences spéciales peuvent seules nous dire si cette explication est suffisante <sup>1</sup>.

Nous voici à la fin de nos études, il ne nous reste qu'à en résumer les résultats principaux et à en tirer quelques conclusions plus ou moins directes.

Le fait principal de notre travail, c'est la disparition des globules blancs du sang, après des injections variées. D'après nos recherches microscopiques, ce fait s'explique très bien : les globules blancs disparaissent du sang parce que, après avoir englobé dans le sang même les matières injectées, ils s'arrêtent dans les organes et surtout dans le foie, où ils transmettent les substances englobées aux cellules endothéliales de cet organe. Nous avons vu aussi que les matières injectées sont en partie englobées directement par d'autres cellules phagocytaires, et notamment par des cellules de la pulpe de la rate et par des cellules endothéliales du foie.

1. Peut-être on peut expliquer de la même manière les cas exceptionnels où je trouvais dans la rate une quantité de bactéries aussi considérable que dans le foie. Nous savons, en effet, qu'une grande quantité de bactéries s'arrête dans les poumons, d'où elles peuvent pénétrer facilement dans la circulation générale. Si elles y pénètrent au moment où les vaisseaux de la rate sont déjà largement dilatés, elles peuvent s'accumuler dans cet organe en grande abondance.

Quoique le fait de l'englobement des matières injectées par les leucocytes et par des autres phagocytes soit déjà bien connu, mes résultats apportent néanmoins plusieurs notions nouvelles. La plus surprenante, c'est la vitesse extraordinaire avec laquelle se produit cet englobement, et dont on n'avait jusqu'ici presque aucune idée. M. Emmerich prétend, par exemple, qu'il faut au moins 15 minutes pour qu'une seule bactérie soit englobée par un phagocyte (*Fortschritte der Medicin*, Bd. 6, 1888, n° 19, p. 736). Quoique nos connaissances actuelles nous présentent cette opinion comme exagérée, il suffit qu'elle ait été émise pour qu'on considère comme inattendue la rapidité d'englobement que nous avons constatée, et qui élimine en quelques minutes les quantités immenses de bactéries que j'ai ordinairement injectées. Les globules blancs sont ainsi de véritables protecteurs du sang; ils le délivrent très vite de toute invasion des bactéries, ainsi que de tous les corps étrangers, et cela doit avoir une grande importance au point de vue physiologique : le sang, qui baigne tous les organes, qui est la source essentielle de leur fonctionnement normal, ne peut être changé dans sa constitution sans un grand danger pour l'organisme.

Les résultats que nous avons obtenus doivent encore beaucoup influencer nos opinions au sujet des phénomènes qui se produisent dans un organisme atteint d'une maladie infectieuse quelconque.

Nos idées à ce sujet sont encore très incomplètes. Mais entre les théories différentes, il y en a deux qui sont à présent les plus répandues. Ce sont : la théorie de M. Fodor et de ses partisans sur les propriétés bactéricides des liquides de l'organisme, et la théorie phagocytaire de M. Metchnikoff. Il me semble que mes résultats donnent un appui important à cette dernière théorie. En effet, si nous considérons que M. Fodor n'a admis les propriétés bactéricides du sang normal que pour expliquer la prompt disparition des bactéries injectées dans le sang, nous pouvons reconnaître tout de suite que cette preuve est à présent complètement insuffisante. D'un autre côté, l'englobement rapide des bactéries prouve nettement que nous avons affaire, pendant les maladies infectieuses, à des processus intracellulaires, à une lutte véritable entre les bactéries et les cellules qui les ont englobées.

[illegible]

Quel rôle en ont joué les individus qui au commencement de l'été de l'année dernière ont été les fondateurs des ligues de défense des droits des personnes de couleur ? De quel rôle les personnes en dehors de ces ligues ont-elles jouées, qui ne se rapportent qu'à des personnes noires après l'expulsion de l'été dernier ? Pour les répondre, il faut d'abord faire la liste de la coalition. C'est ce que j'ai déjà fait au sujet du développement d'activités dans le cadre d'expériences dans un programme antiraciste des facultés de droit et de médecine.



# CONTRIBUTION A LA BIOLOGIE

## DU

### BACTERIUM COLI COMMUNE ET DU BACILLE TYPHIQUE

PAR M. A. PÉRÉ, PHARMACIEN DE L'ARMÉE.

(Travail du laboratoire de chimie de l'hôpital militaire de Marseille.)

---

Le *bacterium coli commune* et le bacille typhique sont-ils deux espèces différentes ou deux variétés de la même espèce? Voilà une question qu'on a beaucoup discutée dans ces derniers temps sans la résoudre, peut-être parce qu'elle est mal posée. La notion d'espèce est infiniment plus confuse dans le monde des infiniment petits que dans celui des animaux supérieurs. Nous savons produire, chez les microbes, dans un court intervalle de temps, et au travers d'un petit nombre de générations, des variations de propriétés telles que les caractères spécifiques les mieux établis peuvent sembler caducs, et qu'on pourrait légitimement se demander si tous les microbes connus ne dériveraient pas de deux ou trois espèces originaires.

Heureusement ces spéculations, d'ordre philosophique, sont-elles à la fois vaines et inutiles. La question n'est pas de savoir si le bacille typhique et le *bacterium coli commune* ont eu un ancêtre commun, mais s'ils sont différents aujourd'hui, et si nous avons le droit de nous méfier beaucoup du premier et peu du dernier.

La thèse à plaider se réduit alors à des termes très simples : ceux qui croient à un passage graduel de l'un de ces microbes à l'autre ne peuvent nous convaincre qu'en nous montrant ce passage s'accomplissant sous nos yeux, au travers d'un nombre de générations assez petit pour que nous ayons à

redouter pratiquement la transformation en bacille dangereux du bacille inoffensif qui peuple souvent notre intestin. Ceux qui croient au contraire que ces microbes sont spécifiquement distincts doivent s'attacher à montrer que, faites dans les mêmes milieux, les cultures des deux bacilles présentent des différences constantes de qualité ou de quantité.

Dans cet ordre d'idées, on a pour ainsi dire épuisé les comparaisons dans l'aspect des cultures, sans arriver, il semble, à différencier le bacille typhique, non seulement du *B. coli commune*, mais encore d'une foule de bacilles pseudo-typhiques. Il a fallu pousser plus loin : comme les différences constatées dans l'aspect des cultures tenaient, en partie au moins, à des différences dans les réactions chimiques du bacille sur le milieu nutritif, on a cherché dans cette direction, et le problème est devenu un problème de chimie.

Mais de ce côté-là encore, les inexactitudes et les contradictions se sont accumulées. C'est ainsi que pour M. Brieger<sup>1</sup> le bacille typhique alcalinise, tandis que pour M. Petruschky<sup>2</sup> il rend acides les bouillons neutralisés où il pousse. Pour M. Klemensiewicz<sup>3</sup> le bacille d'Eberth acidifie le bouillon comme le bacille d'Escherich, mais avec une énergie moindre.

D'après M. Kitasato<sup>4</sup>, l'acide nitreux produit la réaction de l'indol dans les cultures sur bouillon peptonisé du *Bact. coli commune* âgées de 24 heures, et reste sans action sur les cultures du bacille typhique. Mais la valeur de cette réaction est mise en doute par M. Chantemesse<sup>5</sup> qui a obtenu, dans de vieilles cultures du bacille typhique, une coloration rougeâtre par addition des réactifs; et aussi par MM. Rodet et Gabriel Roux<sup>6</sup>, pour lesquels la réaction « très faible » de l'indol ne saurait être invoquée comme un caractère de différenciation spécifique. Enfin M. Baginski<sup>7</sup> n'a pas réussi à déceler la présence de ce composé aromatique parmi les produits de la vie du *Bact. coli commune*

1. Microbes, ptomaïnes et maladies, p. 491

2. CHARCOT, BOUCHART et BRISSAUD, *Traité de médecine*, p. 734.

3. Communication à la Société des médecins de Styrie, *Bulletin médical*, 9 mars 1892, p. 237.

4. *Zeitschrift für Hygiene*, tome VII, p. 515.

5. *Traité de médecine*, p. 734.

6. *Communication à l'Académie de médecine*, 20 octobre 1891.

7. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, t. XIII, p. 352.

dans un milieu alimentaire renfermant de la peptone et du sucre de lait.

Relativement à la matière hydrocarbonée, la fonction fermentative du *Bact. coli commune* a été affirmée par MM. Chantemesse, Perdrix et Widal <sup>1</sup> : le microbe fait fermenter en général tous les sucres, glucoses et saccharoses.

Ces savants ne reconnaissent pas au bacille typhique le même pouvoir, bien que M. Brieger <sup>2</sup> ait observé la formation d'acide lactique aux dépens de la glucose. M. Dubief<sup>3</sup>, qui a confirmé ce résultat, trouve que le bacille typhique produit avec le sucre de raisin une proportion d'acide égale à la moitié environ de celle due à l'action du bacille d'Escherich dans les mêmes conditions de culture. Comme d'après lui, ce bacille dédouble aussi la lactose avec production d'acide, il n'existerait pas, entre les deux microbes, de différence fonctionnelle absolue.

Comment expliquer des résultats si contradictoires ? Il m'a paru qu'il fallait chercher tout d'abord du côté des différences certaines dans la constitution différente des milieux de culture employés. Les bouillons de viande ou les bouillons peptonisés contiennent, outre des aliments azotés complexes, des substances hydrocarbonées qui peuvent n'être pas toujours les mêmes, et varier avec l'état de fraîcheur de la viande ou le mode de préparation. Il peut y avoir du glycogène, du glucose, de l'acide lactique. Entre tous ces aliments le microbe fait son choix, et comme on sait, surtout depuis les études précises de M. Gessard <sup>4</sup>, que les sécrétions d'un microbe peuvent varier beaucoup pour des variations très faibles dans la nature de son aliment, on a chance de trouver dans ces influences délicates l'explication d'une partie au moins des contradictions observées.

Pour suivre cette idée, je me suis attaché tout d'abord à n'introduire dans mes milieux de culture que de la matière albuminoïde telle que la fournissent les produits naturels, ou telle qu'on l'obtient après avoir fait agir sur elle des agents chimiques et des diastases digestives dans des conditions déterminées. Sans doute, on ne sait pas bien ce que contiennent ces

1. *Communication à l'Académie de médecine*, 13 octobre 1891.

2. *Microbes, ptomaines et maladies*.

3. *Société de biologie*, 17 octobre 1891.

4. GESSARD, Fonctions et Races du bacille cyanogène, ces *Annales*, tome V, n° 12.



milieux de culture, mais au moins on peut dire qu'ils ne renferment pas ou presque pas de matière hydrocarbonée. C'est avec ces milieux que j'ai cherché à préciser les relations entre la nature de l'aliment azoté et la propriété de faire de l'acide ou de l'alcali que l'on attribue aux deux microbes, et à fixer quelles formes de l'albuminoïde se prêtent au processus putréfactif aboutissant à l'indol.

Pour étudier alors la manière dont ces microbes actionnent les sucres, j'ai introduit ces substances dans un milieu nutritif azoté, toujours le même en qualité et en quantité, et dont les produits de transformation par l'activité des organismes étaient mesurés isolément. J'ai pu ainsi reconnaître, chez le *Bact. coli commune*, à l'exclusion du bacille typhique, deux attributs fonctionnels s'appliquant le premier aux peptones, le deuxième aux saccharoses, et qui persistent dans une solution de peptone sucrée.

#### ORIGINE ET DIAGNOSE DES MICROBES.

Quatre échantillons du *Bact. coli commune* d'origines différentes ont été étudiés parallèlement : le premier a été retiré de mes excréments au début de ces recherches, mai 1891 ; le deuxième, isolé des eaux alimentaires d'Alger en octobre 1890, a pu être rajeuni après une année de séjour dans un tube de gélatine inoculé au fil de platine ; les deux derniers provenaient des urines d'un dysentérique<sup>1</sup> du Tonkin et des urines d'un typhoïdique.

1. Onze fois sur dix-huit observations, j'ai reconnu le *Bact. coli commune* dans les urines de dysentériques du Tonkin très sévèrement frappés ; trois de ces urines renfermaient de l'albumine ; je n'ai pu trouver ce microbe dans les urines de cinq dysentériques atteints à Marseille.

Je l'ai isolé six fois, sur 44 observations, des urines de typhoïdiques au début de la convalescence, et une fois, observation unique, des urines d'un typhique (typhus exanthématique).

Ces faits sollicitent l'attention en ce qu'ils témoignent de la pénétration réquente dans nos organes des microbes d'origine fécale, dans le cours ou à la suite des maladies infectieuses graves qui retentissent sur l'intestin.

Le *Bact. coli commune* pourrait donc éventuellement être déclaré responsable des accidents consécutifs apparaissant à brève ou à longue échéance par infection secondaire.

J'ai eu l'occasion d'examiner les urines d'un homme de trente ans présentant depuis peu des troubles du côté des organes uropoïétiques. Urines non albumineuses, très louches déjà au moment de la miction sans qu'elles fissent sédiment.

Ils présentent bien les caractères du *Bact. coli commune* : leur culture sur pomme de terre est épaisse, colorée ; ils coagulent rapidement le lait, et le coagulum persiste indéfiniment ; si on traite par un cent. cube de solution d'azotite<sup>1</sup> de potasse à 2/10,000, et par quelques gouttes d'acide sulfurique, un tube de bouillon à 2 0/0 de peptone dans lequel ces microbes ont poussé 24 heures, il se produit une coloration rosée très nette, témoignage de la présence de l'indol.

L'échantillon du bacille typhique provenait des laboratoires de l'Institut Pasteur. Il donne nettement la réaction de Gaffky ; le lait, dans lequel il se cultive bien, ne se coagule pas, même après plusieurs semaines ; il ne forme pas d'indol dans le bouillon peptonisé.

#### DES CORPS QUI PEUVENT FOURNIR AUX DEUX MICROBES L'AZOTE ET LE CARBONE ALIMENTAIRES

##### I

A quels corps les microbes peuvent-ils emprunter leur azote et leur carbone ? C'est la question que je me suis posée tout d'abord.

Pour commencer par les matières albuminoïdes, j'ai préparé une *solution d'albumine*, en mélangeant, avec pureté, un blanc d'œuf dans 3 à 4 volumes d'eau stérilisée. Je me suis fait ensuite des *solutions de syntonines* en faisant agir l'acide chlorhydrique à  $\frac{2}{1,000}$  sur l'albumine desséchée. Les *syntonines* n° 1 ont été obtenues par digestion à 40° pendant deux jours ; on pourrait les comparer aux acide-albumines de la classification usuelle. Les *syntonines* n° 2 sont préparées en chauffant 40 minutes, à 133°, elles doivent se rapprocher des albumoses, des propeptones, termes plus simples que les acide-albumines.

Les accidents s'aggravent, et après plusieurs semaines, purulence très prononcée des urines. L'examen de celles-ci, pratiqué cinq fois depuis le début des accidents, les montrait comme une culture pure du microbe d'Escherich. Le malade avait été atteint, huit mois auparavant, de fièvre typhoïde grave avec hémorragies intestinales.

1. Plusieurs manuels classiques disent à tort *azotate* de potasse pour *azotite* ; *azotate* est bien dans le texte, mais non dans l'esprit du mémoire de M. Kitasato. L'*azotate* et l'acide sulfurique ne colorent ni les cultures du bacille, ni les solutions pures d'indol. Par l'*azotite*, on revient à la réaction de Salkowski.

Les deux liqueurs sont ramenées à l'état de solutions limpides et faiblement alcalines, 100<sup>cc</sup> correspondant à 5 gr. d'albumine employée : elles précipitent par la solution de ferrocyanure de potassium et l'acide acétique.

Enfin j'ai fait aussi des *solutions de peptones*, en faisant agir l'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique, étendus de 4 vol. d'eau, dans la proportion de 100 p. de la dilution pour 10 grammes d'albumine sèche. Les *peptones* n° 1 ont été préparées par l'ébullition prolongée dans un appareil à reflux ; les *peptones* n° 2 à la température de 133° maintenue pendant 40 minutes. On aboutit ainsi à des composés généralement appelés héli-albumines, dont l'identité avec les peptonés est regardée comme probable. Les *peptones* n° 3 procédaient de l'action des alcalis dans la proportion de 3 p. de soude ou de baryte et de 5 p. d'eau pour 1 p. d'albumine ; le tout chauffé à l'autoclave à 133° pendant 40 minutes.

Toutes ces peptones étaient ramenées à l'état de solutions faiblement alcalines, dont 100<sup>cc</sup> correspondaient à 5 grammes d'albumine traitée ; elles donnent la réaction du biuret, et ne se troublent pas par la solution de ferrocyanure de potassium acétique.

Ensemencé dans ces milieux, le microbe d'Escherich forme rapidement culture dans les solutions des syntonines 1 et 2, ainsi que dans les solutions des peptones 1, 2 et 3, mais il ne donne pas de culture dans l'albumine diluée, ne sécrétant pas de diastase apte à la transformation de ce corps en produits assimilables. Il ne se développe pas non plus aux dépens des dérivés plus dégradés de l'albumine, tels que les acides amidés, en particulier la leucine et l'urée.

Il peut cependant assimiler l'azote de l'ammoniaque lorsque celle-ci est combinée à des acides organiques pouvant servir de source de carbone, et l'azote des sels ammoniacaux à acides minéraux, en présence d'un acide organique servant d'aliment hydrocarboné.

Il forme culture dans les milieux neutres suivants :

Liquide A...	{	Lactate (ou succinate) d'ammoniaque.....	20 pr 1000
		Phosphate de potasse .....	2.50 —
		Phosphate de soude .....	2.50 —
		Sulfate de magnésie .....	1.25 —
		Chlorure de sodium.....	1.25 —



Liquide B. .	{	Lactate, ou succinate de soude.....	20	pr 1000
		Phosphate double d'ammoniaque et de soude.	5	—
		Sulfate d'ammoniaque.....	2	—
		Phosphate de potasse neutre.....	1	—
		Sulfate de magnésie.....	1	—
		Chlorure de sodium.....	1	—

Remplaçons maintenant, dans ces liquides, l'acide lactique par des sucres ou des matières amylacées, le bacille ne se développera qu'à la condition de pouvoir sécréter les diastases nécessaires pour dédoubler ceux de ces corps non directement assimilables. Ces essais nous renseigneront donc sur les diastases qu'il peut sécréter.

L'expérience aboutit aux résultats suivants : avec les glucoses (dextrose, lévulose, galactose, arabinose), le trouble est rapide; il se produit un peu moins vite dans les liquides renfermant des saccharoses, sucre de canne et sucre de lait; dans la dextrine, la culture est des plus riches.

Le microbe vit aussi aux dépens de l'amidon cuit; l'examen microscopique d'une culture de 4 ou 5 jours y montre de nombreux bâtonnets très petits et possédant une certaine mobilité : le développement est lent et la culture reste assez pauvre.

Des faits qui précèdent il ressort avec évidence que le *Bact. coli commune*, dépourvu de caséase, sécrète toutes les diastases s'appliquant à la matière hydrocarbonée, sucrase et amylase.

## II

Comme le bacille d'Escherich, le microbe d'Eberth ne se développe pas dans la solution d'albumine; il trouble rapidement les solutions des syntonines et des peptones; il se développe aussi dans les liquides A et B. Son développement dans ces milieux est plus lent que celui du *Bact. coli commune*.

Il vient bien dans le liquide B renfermant les glucoses : dextrose, lévulose, galactose : très lentement dans les solutions de lactose et de sucre de canne.

La culture dans la dextrine est abondante; dans l'amidon elle est très lente et reste pauvre.

Nous n'apercevons par la comparaison de ces résultats aucune différence fonctionnelle entre les deux microbes, mais

seulement des différences de mode : le *Bact. coli commune* se multiplie plus rapidement que le Bacille typhique dans ces milieux de culture<sup>1</sup>.

Remarquons tout de suite que nous n'en sommes pas encore à examiner le pouvoir ferment, mais seulement celui de vivre aux dépens des sucres. Nous retrouverons bientôt l'étude de la fermentation de ces substances et de leurs produits de transformation.

#### FORMATION D'ACIDE OU D'ALCALI DANS LES SOLUTIONS DES ALBUMINOIDES ET DANS LE BOUILLON DE VIANDE

Le *Bacterium coli commune* et le bacille typhique ne sont pas les seuls microbes signalés comme produisant de l'acide dans le bouillon de viande : MM. Roux et Yersin<sup>2</sup> ont vu que le bacille diphtérique acidifie ce liquide dans les premiers jours ; plus tard la culture devient alcaline en même temps que s'accroît sa puissance toxique.

Peut-être pourrait-on expliquer par des faits du même ordre la contradiction relevée plus haut entre M. Brieger et M. Petruschky ; mais il m'a paru qu'une autre explication était possible : la variabilité dans la constitution du milieu employé. Le tissu musculaire n'est pas, en effet, *post mortem*, de la matière inerte comme l'albumine desséchée qui nous a fourni nos syntonines : c'est au contraire un milieu en état d'évolution constante, soumis à des mutations d'ordre intérieur, par suite de la persistance plus ou moins longue de la vie cellulaire, et à des mutations d'ordre extérieur quand les microbes y sont intervenus. Un même échantillon de viande fournira donc, suivant son état de fraîcheur ou de faisandé, des bouillons absolument différents : ces différences sont déjà révélées par les agents chimiques ; à plus forte raison seront-elles perçues et indiquées par les microorganismes.

J'ai donc commencé par mesurer les variations d'acidité ou d'alcalinité amenées par les deux microbes dans les solutions

1. Dans toutes ces expériences je stérilisais séparément le liquide renfermant la matière hydrocarbonée et la solution des sels, de manière à éviter toute action sur les saccharoses ou la matière amylacée.

2. *Contribution à l'étude de la diphtérie*, 2<sup>e</sup> mémoire : ces *Annales*, tome III, n<sup>o</sup> 6.

albuminoïdes préparées comme il est dit plus haut, l'acidité étant exprimée en acide oxalique, l'alcalinité en soude, les chiffres étant rapportés à 1,000<sup>cc</sup> de liquide :

	SYNTONINES N° 1				SYNTONINES N° 2				PEPTONE PEPS. A 2 %			
	AP. 24 H.		AP. 4 JOURS		AP. 24 H.		AP. 4 JOURS		AP. 24 H.		AP. 4 JOURS	
	acide	alcali	acide	alcali	acide	alcali	acide	alcali	acide	alcali	acide	alcali
Bact. coli commune...	0.426	»	»	» 227	» 083	»	»	» 370	»	» 510	»	» 780
Bacille typhique .....	0.043	»	»	» 356	»	» 025	»	» 414	»	» 541	»	» 890

Il résulte de ces chiffres que les deux microbes, semblables en cela aux autres agents de décomposition de la matière albuminoïde, font de l'ammoniaque et rendent alcalin leur milieu de culture. Mais au début, il y a une courte période d'acidité.

Avec le bouillon, nous allons trouver à la fois des ressemblances et des différences notables, que mettent en relief les chiffres ci-dessous :

BOUILLON A PARTIES ÉGALES DE VIANDE FRAICHE ET D'EAU

	après 24 heures	après 48 heures	après 5 jours
Bact. coli commune.....	0.215 acide	1.333 acide	0.648 acide
Bacille typhique .....	0.180 acide	0.989 acide	0.044 alcali

Les deux cultures sont restées acides pendant les 4 premiers jours; au 5<sup>e</sup> jour le bacille typhique avait communiqué au bouillon une réaction alcaline, ce que le *Bact. coli com.* n'a fait qu'au 8<sup>e</sup> jour. Les deux microbes se comportent dans ce milieu comme le bacille diphtérique.

Mais la quantité élevée d'acide existant dans ces cultures après 48 heures, mise en regard de celle qu'ont fournie les syntonines, permet de soupçonner que cet acide ne dérive pas en entier de la matière albuminoïde, mais plutôt d'un autre corps, tel que le glucose, dont la proportion est variable suivant le degré des mutations qui seront intervenues dans le muscle. S'il en est ainsi, on doit pouvoir, avec de la viande conservée plus ou moins longtemps, obtenir des bouillons où l'acidité varie, et même ne se produit plus quand on y fait vivre les deux microbes. C'est ce que met hors de doute l'expérience suivante :

J'ai pris à l'abattoir un échantillon de viande de bœuf; la viande hachée est abandonnée à la température de 10-13° et sert à



faire des bouillons qui, préparés à diverses époques et par les mêmes procédés, possédaient une acidité initiale que les chiffres suivants expriment en acide oxalique pour 1,000 parties.

N° 1.	Viande de	4 heures,	acidité du bouillon	.....	1.54
N° 2.	—	de 24 heures,	—	.....	1.93
N° 3.	—	de 40 heures,	—	.....	1.48
N° 4.	—	de 48 heures,	—	.....	0.97

Neutralisés exactement et ensemencés, ils ont donné après 48 heures de culture les résultats ci-après :

	Bouillons n° 1	n° 2	n° 3	n° 4
Bact. coli com.....	0.80 acide	0.55 acide	0.42 alcali	0.29 alcali
Bacille typhique.....	0.64 acide	0.25 acide	0.17 alcali	0.40 alcali

Les affirmations de M. Brieger et M. Petruschky, bien que diamétralement opposées, sont donc exactes toutes deux. Tout dépend des conditions d'expérience, qui se trouvent être insuffisamment précisées quand on dit seulement qu'on fait la culture dans du bouillon. Ce milieu si souvent employé est de composition à la fois trop incertaine et trop variable pour servir à l'étude des fonctions microbiennes.

On en augmente encore la complication quand on y introduit des peptones. Dans un bouillon additionné de 2 0/0 de peptone, le bacille d'Escherich a formé une petite quantité d'acide le premier jour; après 48 heures, ses cultures, comme celles du microbe d'Eberth, étaient alcalines.

#### SUR LA FONCTION PRODUCTRICE D'INDOL.

##### I

C'est avec le bouillon peptonisé que M. Kitasato a observé la production d'indol.

A priori, on peut soupçonner une relation entre cette formation d'indol et la présence de la peptone, si on considère que dans son habitat naturel, l'intestin, le microbe rencontre la substance albuminoïde ayant déjà subi de multiples actions digestives. En effet, dans une solution pure de fibrine-peptone pepsique, le *Bact. coli commune* donne après 24 heures la réaction très nette de l'indol, tandis qu'il n'y en a pas trace dans les

solutions de nos syntonines 1 et 2, même après plusieurs jours de culture.

Examinons au même point de vue nos peptones 1, 2 et 3, qui se comportent de la même manière vis-à-vis des agents chimiques. Le microbe signale des différences entre elles : il n'a pas formé d'indol dans les premières, et en a donné de très faibles quantités dans les deuxièmes ; dans les troisièmes, la coloration obtenue était sensiblement la même que dans les solutions de peptone pepsique.

Il n'y a donc pas de peptone dans nos syntonines, bien qu'elles aient été fabriquées à chaud et en présence des acides. Il y en a des quantités inégales dans nos trois peptones fabriquées par les moyens chimiques : notre microbe se comporte même avec la dernière comme avec les peptones pepsiques.

L'albumine cuite, traitée par la pepsine pure<sup>1</sup> et l'acide chlorhydrique à  $\frac{3}{1,000}$ , fournit un liquide qui, neutralisé etensemencé après stérilisation, réagit vis-à-vis du microbe comme la fibrine-peptone pepsique essayée plus haut : elle donne une petite quantité d'indol.

La caséine s'est comportée comme l'albumine sous l'action des forces chimiques qui précèdent. Seules les solutions des caséine-peptones 2 et 3 ont donné de l'indol.

Mais la diastase digestive de la caséine est celle du pancréas. Pour l'étudier, j'ai procédé d'abord à une digestion par la trypsine en me mettant à l'abri de l'ingérence des microbes. Deux flacons ont reçu la même quantité de caséine purifiée et divisée dans 100<sup>cc</sup> d'eau faiblement alcaline, et, après stérilisation à l'autoclave, une solution de trypsine pure filtrée sur la porcelaine. La diastase s'est montrée active, la dissolution était complète après quelques heures. L'un des flacons a alors étéensemencé avec le *Bact. coli commune* ; le deuxième servait de témoin. Après 24 heures une grande proportion d'indol avait pris naissance dans le liquideensemencé, comme en témoignait la coloration rouge très foncée due aux réactifs.

Il n'y en avait pas dans le flacon témoin, resté stérile malgré son maintien prolongé à la température de 40°. Ce résultat paraît en opposition formelle avec l'opinion qui attribue à la trypsine non

1. La pepsine médicinale, mélangée de matière hydrocarbonée, ne conduirait pas aux mêmes résultats.

seulement l'élaboration des peptones, mais aussi leur dédoublement en leucine et tyrosine<sup>1</sup>, premiers termes constants de la putréfaction, puis en produits plus simples, tels que l'indol, le scatol, le phénol. Ici, la trypsine paraît avoir arrêté son action au terme peptone<sup>2</sup>, première phase de la digestion, comme la sucrase limite la sienne au terme glucose, sans arriver à l'acide lactique ou à l'acide butyrique. Il faut, pour pousser plus loin la dislocation de la molécule, que les microbes interviennent, et c'est avec la peptone que nous lui avons fournie que le nôtre a produit son indol.

On obtient aussi plus d'indol avec une digestion pancréatique d'albumine qu'avec une digestion pepsique. Ce n'est donc pas la nature de la matière albuminoïde originelle qui joue un rôle, mais bien la diastase mise en œuvre. Il semblerait donc, conformément à la thèse soutenue par M. Leven<sup>3</sup>, que le rôle de l'estomac dans la digestion des matières albumoïdes serait surtout de procéder à la dissolution de ces corps, à leur transformation en syntonines. Sans insister sur ce point important de physiologie, nous pouvons conclure de ce qui précède que, pour le microbe, il y a peptone et peptone; c'est la peptone pancréatique qui se prête le mieux aux réactions dont l'indol est le terme ultime, c'est elle qu'on devra lui offrir.

On s'explique bien, avec ces notions, les résultats contradictoires de divers savants qui ont fait cette recherche de l'indol : les peptones du commerce sont, je m'en suis assuré, inégalement aptes à la production de ce corps, et j'en ai trouvé qui ne donnaient aucune trace d'indol dans les 24 heures.

Au lieu de produire les peptones par des moyens chimiques ou à l'aide des liquides digestifs, on peut employer les microbes peptogènes. Une culture de *tyrothrix tenuis* dans de la caséine privée d'ammoniaque par ébullition, etensemencée avec du *Bact. coli commune* après stérilisation, donne une petite propor-

1. Suivant MM. Kühne et Chittenden, les acides amidés seraient dus à l'action de la diastase sur leur hémipeptone.

2. « L'action des diastases, quelles qu'elles soient, dit M. Duclaux, ne fait pas subir à la caséine une transformation profonde, et en particulier ne donne ni sels ammoniacaux à acides gras, ni leucine, ni tyrosine, ni gaz. Ces substances sont toujours des produits directs de l'action des microbes, des témoins de leur présence et de leur vie. » *Le lait*, p. 127.

3. GARNIER et SCHLAGDENHAUFFEN, *Chimie physiologique*, 2<sup>e</sup> partie, page 282 (*Encyclopédie chimique*).



tion d'indol : le produit élaboré par le *tyrothrix tenuis* se montre donc être une peptone.

Ensemençons maintenant à la fois les deux êtres, *tyrothrix tenuis* et *Bact. coli commune*, dans la solution de caséine. Sitôt que celle-ci est digérée en proportion assez notable, l'acide nitreux colore la liqueur en rouge foncé, beaucoup plus intense que dans l'expérience précédente. Il y a donc plus d'indol formé pendant la symbiose, et le rôle du *tyrothrix tenuis* n'est pas seulement d'élaborer la peptone. Il doit y avoir un mécanisme plus compliqué.

M. Nencki<sup>1</sup> a déjà vu, dans une culture mélangée de deux organismes, se former un produit de fermentation, l'alcool butylique, que les cultures isolées ne renferment pas, et M. Duclaux a attribué ce fait à un changement dans les relations des microbes avec l'oxygène<sup>2</sup> : C'est dans une raison du même ordre qu'on trouve l'explication du phénomène relevé dans notre culture mélangée: le microbe du côlon, vivant à côté d'un aérobie puissant, mène dans ce milieu une vie relativement anaérobie et c'est alors qu'il se forme le plus d'indol. La preuve est que si on cultive comparativement le bacille au contact de l'air et dans le vide, dans un liquide où le *tyrothrix tenuis* a élaboré sa peptone, on trouve, après 48 heures, que la culture anaérobie, moins abondante pourtant que la culture aérobie, renferme environ cinq fois plus d'indol.

M. Brieger a remarqué (*l. c.*, p. 436) que le libre accès de l'oxygène favorise la formation des composés aromatiques pendant la putréfaction des matières albuminoïdes; mais il semble que ce savant ne se soit pas préoccupé de la nature des microbes en jeu. On peut comprendre alors que le contact facile de l'air ait eu pour unique effet de favoriser la multiplication et l'action digestive des espèces peptogènes, sans modifier les relations avec l'oxygène des microbes producteurs d'indol, comme dans notre culture mélangée.

*Raréfaction de la peptone pancréatique, absence ou raréfaction de l'oxygène, telles sont les conditions de milieu qui favorisent la manifestation fonctionnelle du bacille : ce sont précisément celles qu'il trouve réalisées dans l'intestin.*

1. *Centralbl. f. Bact.*, n° 8, 1892.

2. *Ces Annales*, tome VI, n° 4.

Avec le *bacillus mesentericus vulgaris*, le phénomène marche sensiblement de même ; le liquide où ce microbe a vécu enferme de la peptone que le bacille d'Escherich reconnaît comme telle ; par la culture mélangée, les effets de la symbiose se présentent encore, peut-être à un degré moindre.

La diastase digestive sécrétée par le *tyrothrix tenuis* s'est montrée d'ailleurs tout aussi incapable que les diastases du pancréas de pousser son action au delà du terme peptone, quand on la fait agir en se mettant à l'abri de l'ingérence des microbes.

Si la peptone d'origine pancréatique est éminemment propre à l'exercice de la fonction productrice d'indol, il n'en est pas moins vrai que les autres peptones partagent cette propriété dans une certaine mesure. Ainsi le *Bact. coli commune* donne de l'indol aux dépens de l'albumine peptonisée par la papaïne de Wurtz, et aux dépens de la légumine peptonisée par la trypsine.

## II

La relation que nous venons d'établir entre la présence d'une peptone et la formation d'indol est-elle absolue ? Il y a des raisons de le croire. L'indol est un produit de dégradation de la matière albuminoïde, et provient sans doute du groupe benzénique qu'elle contient. Il n'a aucunement la physionomie d'un produit de synthèse, pouvant être fourni par exemple aux dépens des sels ammoniacaux. Il ne s'en forme pas trace dans les liquides A et B mentionnés plus haut, quelle que soit la substance ternaire qu'on y introduit comme source de carbone, pas même lorsqu'on emploie dans ce but l'acide cinnamique qui contient un noyau benzénique, et dont l'essai s'imposait, depuis que M. Baeyer a réalisé la synthèse de l'indol en partant de l'acide nitrocinnamique.

On peut donc considérer comme très étroite la relation entre la présence d'une peptone et la formation de l'indol par le *Bact. coli commune*, et dès lors faire servir le microbe à déceler les peptones dans les liquides physiologiques ou pathologiques. Sa sensibilité sous ce point de vue dépasse celle des réactifs ordinaires des peptones, et n'est limitée que par la sensibilité de la réaction de l'indol.

J'ai dû me contenter de faire cette étude pour les milieux habituels de culture. J'ai constaté que ce microbe ne donne pas d'indol dans le bouillon de viande, même après plusieurs jours, et quel que soit le degré de concentration ; il n'y trouve pas de peptones. Si on en ajoute, l'apparition de l'indol se fait à une époque très variable, et la réaction n'est jamais aussi intense qu'avec la peptone pure au même titre, probablement parce que le microbe, ayant plusieurs sources d'azote à sa disposition, ne s'attaque pas de suite aux peptones, les seules dont la destruction donne le terme indol<sup>1</sup>. Si on veut que la production d'indol soit rapide, il faut exclure tout autre aliment azoté que les peptones.

L'urine normale, l'urine additionnée de peptone réagissent comme le bouillon de viande et le bouillon peptonisé. Il serait intéressant d'examiner à ce point de vue les urines dans les cas de *peptonurie*, symptôme qui relève le plus souvent d'intoxications microbiennes. La plupart des physiologistes admettent que les peptones éliminées sont des peptones vraies, tandis que M. Kühne y verrait plutôt des dérivés moins simples, tels que les syntonines.

Il ne se forme pas d'indol dans la gélatine ou la gélose nutritive aubouillon; il s'en produit dans la gélatine ou la gélose à la peptone. J'isole le composé aromatique en laissant au contact de la plaque, pendant 40 à 60 minutes, une petite quantité d'alcool à 60°, qui prend une belle coloration rose-rouge par l'acide nitreux : on voit ainsi que la formation de l'indol a lieu à des températures très différentes, entre 18° et 37° centigrades.

Dans les tubes de gélose peptonisée où le microbe a vécu, je pratique la réaction en un seul temps, versant l'alcool, la solution de nitrite et l'acide sulfurique dans le tube même : la teinte rose apparaît bientôt, s'avivant peu à peu.

L'alcool se prête encore comme dissolvant à l'examen des cultures sur pomme de terre ; on broie le tubercule avec quelques gouttes d'eau ; le mélange très alcalin est délayé dans une quantité convenable d'alcool : ce liquide filtré donne souvent, mais pas toujours, la réaction de l'indol. C'est que la pomme de

1. On pourrait rapprocher de ce fait cet autre, découvert par MM. Vaillard et Vincent, que la toxicité des cultures du bacille tétanique est très inégale dans les divers bouillons.

terre n'est pas toujours identique à elle-même, et que la matière albuminoïde s'y transforme suivant les besoins de la plante. On le savait déjà par les analyses, qui y ont constaté une proportion variable d'amides sur l'ensemble de sa matière azotée.

Le *Bact. coli commune* fournit de son côté la preuve de ces mutations : il ne donne pas d'indol dans le tubercule bien formé, vendu sous le nom de pomme de terre *nouvelle*; il n'en donne pas davantage dans le tubercule *avorté*, dont l'ingestion a provoqué parfois des accidents toxiques; mais dans le tubercule récolté au moment de la fructification, il en fabrique des proportions variables suivant l'âge du tubercule, c'est-à-dire suivant le temps écoulé depuis la récolte, et la durée de la vie cellulaire depuis ce moment.

Il y a plus : ces mutations des tissus peuvent modifier l'aspect des cultures sur pomme de terre, ainsi que l'ont déjà soupçonné M. Büchner <sup>2</sup>, à propos du bacille typhique, et M. Heim <sup>3</sup> au sujet du microbe du lait bleu : sur la pomme de terre *nouvelle*, le *Bact. coli commune* fournit une culture à peine visible, sans épaisseur et incolore, parfois terne et parfois humide et brillante, où l'on pourrait voir la réaction de Gaffky, surtout lorsqu'on emploie l'espèce dite de *Hollande*; sur le tubercule *avorté*, une culture rapide et très épaisse, d'un brun-verdâtre, comme si le milieu était particulièrement riche en aliments azotés, et qu'à défaut de peptones il contient une grande proportion de syntonines; sur la pomme de terre ordinaire, suivant son âge, une culture gris sale, jaunâtre, purée de pois, brun-chocolat <sup>3</sup>.

Il faut donc bien se garder d'accorder trop de créance à ces signes contingents, et surtout de les faire servir à distinguer des espèces nouvelles qui viendraient prendre place dans le long catalogue des bacilles pseudo-typhiques.

1. BUCHNER, Sur les prétendues spores des bacilles typhiques, *Centralblatt für Bakt.*, tome IV, p. 356.

2. HEIM, Recherches sur le lait bleu. *Arbeiten aus Kais. Gesund.*, tome V, p. 524.

3. Il est probable que des mutations de même ordre que celles signalées ici intéressent aussi la matière hydrocarbonée renfermée dans le tubercule, tout au moins dans les tubercules germés ou préparant leur germination : nouvelle cause de contingence dans les résultats des cultures.



## III

Le microbe d'Eberth n'a pas produit d'indol dans nos solutions de syntonines ni dans nos solutions de peptones, particulièrement avec les peptones d'origine trypsique; l'examen des cultures a été négatif après 5, 10, 20, 30 et 60 jours.

Il ne se forme pas non plus d'indol dans une culture mélangée de ce microbe et du *tyrothrix tenuis*. Les cultures anaérobies dans la peptone pure n'en renferment pas après 15 jours; mais elles dégagent une odeur putride très marquée, ne rappelant pas l'odeur pénétrante et caractéristique de l'indol.

Le bouillon de viande, le bouillon peptonisé ne se prêtent pas davantage à la production de l'indol par le bacille typhique.

Ces résultats conduisent à accorder à cet attribut différentiel une valeur que les microbiologistes ne lui reconnaissent pas en général, et ils permettent de recommander cette réaction comme un moyen facile de diagnostic.

Pour distinguer le bacille d'Escherich du microbe d'Eberth, onensemencera les germes dans une solution de peptone pancréatique pure ou additionnée seulement de sels alcalins (phosphate de potasse). Après un ou deux jours de culture à 36°, au contact ou à l'abri de l'air, pour 10<sup>cc</sup> de liquide, on ajoutera 1<sup>cc</sup> de solution d'azotite de potasse, et 5 ou 6 gouttes d'acide sulfurique pur. Les cultures du *Bact. coli com.* prendront une coloration rouge très nette; celles du bacille typhique ne montreront aucun changement de couleur.

On pourra confirmer ces résultats par culture sur gélose peptonisée, et surtout en faisant une culture mélangée avec le *tyrothrix tenuis* dans une solution de caséine purifiée.

## SUR LA FONCTION FERMENTATIVE DES SUCRES.

## I

Le *Bact. coli commune* est un ferment des sucres; il attaque les glucoses et les saccharoses.

Cette action peut être mise en évidence par le procédé habituel de culture des ferments, en ajoutant du carbonate de

chaux à la liqueur sucrée. Les produits acides qui prennent naissance provoquent un dégagement abondant d'acide carbonique.

La fermentation est énergique les premiers jours; elle se ralentit ensuite. C'est la glucose qui est le plus rapidement transformée; c'est la saccharose qui fermente le plus difficilement. La transformation complète de la lactose, dans une solution renfermant 2 0/0 de peptone et 5 0/0 de ce sucre, a demandé 9 jours; celle de la glucose dans les mêmes conditions de milieu et de température avait demandé 6 à 7 jours. La température la plus favorable est de 37 à 40° C.

La proportion des produits acides formés paraît assez élevée, le dosage de la chaux par le procédé de Mohr peut donner une idée de cette proportion; après 48 heures de fermentation, le liquide à 5 0 0 de lactose renfermait 2<sup>es</sup>, 56 0/0 d'acides formés, évalués en acide oxalique.

Si, après la fermentation, on précipite la chaux par un excès d'acide oxalique, qu'on distille après avoir filtré et neutralisé par la soude, le produit distillé renferme de l'alcool; le liquide qui reste, additionné d'acide phosphorique et distillé, a fourni des acides volatils parmi lesquels surtout ou exclusivement l'acide acétique<sup>1</sup>; dans le résidu, on trouve de l'acide lactique.

L'accès facile de l'air rend plus régulière la fermentation, qui fournit alors une plus grande quantité d'acide lactique; pour arriver à ce résultat, je pratiquais les cultures dans des fioles dont le goulot était muni d'un petit dispositif permettant de faire passer, de temps à autre, un courant d'air filtré à travers la culture. Les acides volatils se forment en beaucoup plus grande abondance lorsque l'air n'est pas renouvelé, et que la fermentation s'effectue ainsi dans une atmosphère riche en acide carbonique et à peu près dépourvue d'oxygène; une fermentation ainsi conduite ne produit que des proportions fort minimes d'acide lactique, comme si ce corps était élaboré par la cellule aérobie, et comme si l'acide acétique et les acides volatils provenaient surtout des cellules anaérobies.

Avec la saccharose, la fermentation languit souvent, et particulièrement lorsque la semence est vieille, comme si le pouvoir diastasique de celle-ci était diminué; une série de passages dans du bouillon rend au ferment son activité première.

1. Je n'ai pu procéder à l'analyse complète des produits acides de cette fermentation.

La fermentation du sucre de canne s'accomplit sans que le liquide possède à aucun moment la propriété de réduire la liqueur cupro-sodique.

Dans le cas de fermentation régulière au contact de l'air, la solution lactique obtenue en partant de la dextrose dévie à droite le plan de la lumière polarisée, ainsi que l'avait constaté M. Nencki<sup>1</sup>; mais dans les mêmes conditions de fermentation la lévulose m'a conduit à une solution lactique inactive<sup>2</sup>. La propriété de fournir de l'acide lactique droit est donc en même temps fonction du microbe et fonction de la matière fermentescible. Peut-être y a-t-il d'autres influences entrant en jeu; mais nous sommes ici sur un terrain difficile où les contradictions se multiplient: aussi me bornerai-je à une simple mention des résultats auxquels je suis déjà arrivé, me réservant de revenir sur leur interprétation dans un travail plus étendu.

Il était intéressant de rechercher si, en partant de la lévulose, le microbe n'aboutirait pas à l'acide paralactique par une fermentation secondaire. J'ai d'abord cherché, sans succès, à provoquer ce dédoublement par la culture du *Bact. coli commune* dans mes liquides A et B (p. 547).

Mais les résultats ont été différents lorsque j'ai cultivé le microbe dans des conditions qui rendent son développement difficile: après 38 jours de culture dans 500 c. c. de mon liquide B dont la proportion de phosphate double de soude et d'ammoniaque était réduite à 2/1,000 et celle de sulfate d'ammoniaque à 1/1,000, le microbe avait produit ce dédoublement en attaquant de préférence l'acide gauche. La culture concentrée à 40 c. c., et présentant une réaction acide prononcée, a produit une déviation à droite égale à 0°,4.

## II

Le microbe d'Eberth est-il un ferment des sucres? agit-il comme tel sur les glucoses et sur les saccharoses? J'ai cherché une réponse à cette double question par quelques expériences dont je crois utile de donner les détails.

1. *Annal. Inst. Past.* Revues et analyses, t. V, n° 5.

2. Les nombreuses observations au polarimètre que ce travail a nécessitées ont été faites au laboratoire mieux outillé de la Réserve des médicaments, par M. le pharmacien-major Nicolas, qui m'a prêté son obligeant et précieux concours. Je lui adresse ici mes vifs remerciements.

EXPÉRIENCE I. — Du lait écrémé, neutralisé sensiblement par agitation avec le carbonate de chaux, est réparti par doses de 20 c. c. dans des flacons, et stérilisé à 120° pendant 15 minutes. Chaque flacon reçoit un gramme d'un sucre d'espèce différente, en solution concentrée à 20 0/0 et stérilisée, puis la valeur d'une anse d'une culture du bacille typhique âgée de 48 heures.

Après 6 jours d'incubation à 36°, le lait additionné de glucose s'est coagulé; celui qui renferme la lévulose s'est coagulé au 9<sup>e</sup> jour. Après 15 jours, aucun coagulum ne s'étant formé dans les trois autres flacons, j'ai élevé progressivement la température de leur contenu : le lait à la galactose s'est coagulé à 62°; les deux autres échantillons (saccharose et lactose) ont pu supporter la température de 100° pendant 10 minutes, puis celle de 120° pendant 15 minutes sans que la caséine se soit séparée.

L'expérience est probante : on ne saurait imputer la précipitation de la caséine à une autre cause qu'à la formation de produits acides aux dépens des glucoses; le bacille typhique dédouble ces sucres, et n'agit pas d'une manière sensible sur les saccharoses.

EXPÉRIENCE II. — J'ai changé la nature de l'aliment azoté. En opérant avec une solution de peptone légèrement alcaline, j'ai cherché quel était l'état de la liqueur après culture en présence des divers sucres. Les chiffres ci-dessous évaluent en acide oxalique et en soude les proportions d'acide ou d'alcali qui existent après 5 jours de culture, pour 1,000 c. c. de liquide :

Solution de peptone pure à 2 %	neutralisée.....	0.594	soude.
—	peptone — et saccharose 2 %.....	0.594	—
—	peptone — et lactose 2 %.....	0.584	—
—	peptone — et arabinose 2 %.....	0.114	ac. oxalique.
—	peptone — et galactose 2 %.....	1.103	—
—	peptone — et lévulose 2 %.....	1.175	—
—	peptone — et glucose 2 %.....	1.385	—

Ces résultats confirment et précisent la conclusion de l'expérience précédente : le liquide renfermant les saccharoses se comporte comme la solution de peptone pure, il conserve son alcalinité originelle. Ces sucres ne sont donc pas attaqués.

EXPÉRIENCE III. — Elle a pour but de voir si le dédoublement des sucres n'est pas favorisé par l'addition de carbonate de chaux.

Le milieu de culture renferme 2 0/0 de peptone et 4 0/0 de sucre; l'action est mesurée par le dosage indirect de la chaux dissoute (procédé de Mohr) et évaluée en acide oxalique, pour 1,000 c. c.

	avant l'ensemencement	ap. 5 jours	ap. 8 jours	ap. 14 jours	ap. 18 jours
Glucose .....	0 <sup>gr</sup> 75	5.75	7.04	12.80	»
Lévulose ....	0 85	3.79	5.10	»	»
Galactose....	0 65	3.43	4.40	»	»
Lactose .....	0 56	0.38		0.12	0.00
Saccharose ..	49	0.36		traces	0.00



Il y avait encore, après 14 jours de fermentation, 12 grammes par litre de glucose non attaqué, sur 40. On voit que la quantité de chaux en solution augmente progressivement dans les solutions des glucoses par la formation de produits acides; elle diminue et disparaît par l'action des alcalis formés dans les solutions de saccharoses. Nous pouvons donc conclure que le microbe d'Eberth est un ferment peu énergique des glucoses; il respecte le sucre de canne et le sucre de lait<sup>1</sup>.

D'après M. Büchner, le bacille typhique ferait fermenter le sucre de canne. La contradiction entre l'opinion de ce savant et celle sus-énoncée n'est qu'apparente : ce sucre fermente ou ne fermente pas, suivant la nature de l'aliment albuminoïde qu'on lui offre. Si on remplace la peptone par les syntonines, la quantité de chaux dissoute, loin de diminuer, augmente pendant les premiers jours, dans de faibles limites; mais avec le bouillon de viande fraîche la différence est beaucoup plus notable.

La raison de ces différences est facile à saisir : la peptone préserve le sucre de canne en produisant rapidement des proportions relativement élevées d'alcali, qui empêchent la sécrétion de la sucrase, ou l'intervention de la saccharose par la diastase sécrétée. La réaction du bouillon est, au contraire, acide pendant les premiers jours de la culture, condition qui convient à l'élaboration de la diastase et à son action sur le sucre. Ici, la glucose musculaire a servi d'amorce par sa transformation en acides.

La fermentation du sucre de canne est peu énergique. La vieille semence ne la produit pas faute d'une diastase, comme elle ne peut se développer dans le liquide B au sucre de canne et au sucre de lait; mais le microbe récupère son pouvoir diastatique par une série de passages dans le bouillon de viande.

La lactose ne fermente pas sensiblement dans le bouillon. Les chiffres qui suivent évaluent en acide oxalique les quantités de chaux dissoutes après cinq jours de culture :

Bouillon de viande à parties égales	Bouillon plus lactose	Bouillon plus saccharose
0,427 p. 1.000.	2 0/0 0,549 p. 1.000.	2 0/0 2,135 p. 1.000.

1. Il me paraît absolument nécessaire de purifier soi-même la lactose soi-disant pure du commerce, dont j'ai rencontré deux échantillons mélangés de sucres qui fermentaient par le bacille typhique en présence des peptones.

Parmi les produits du dédoublement de la glucose, j'ai trouvé en faible proportion un corps volatil fournissant de l'iodoforme, de l'acide acétique et de l'acide lactique. M. Brieger a reconnu que cet acide est l'acide lactique de fermentation; tandis qu'un mémoire récent de M. Blachstein (*Arch. des Sciences biologiques de l'Inst. Imp. de méd. expérimentale de Saint-Petersbourg*, tome I, n<sup>os</sup> 1 et 2, 1892), annonce, suivant l'opinion de M. Bischler, que le bacille typhique fait un acide lévogyre avec la glucose.

Mes essais m'ont conduit, tantôt à l'acide lactique lévogyre, tantôt à l'acide lactique inactif, sans qu'il me soit encore possible de pénétrer les causes de ces variations.

Enfin, comme le *Bact. coli commune*, le bacille typhique est capable de dédoubler l'acide lactique normal, lorsqu'on le fait vivre dans le liquide B dont la valeur nutritive a été diminuée dans les proportions indiquées plus haut; après 38 jours de culture, 500 c. c. de celle-ci sont concentrés à 40 c. c. : la liqueur, acide, produit une déviation à droite de 4 dixièmes.

Dans les deux cas, qu'il s'agisse du *Bact. coli commune* ou du bacille d'Eberth, l'ébullition de cette liqueur dextrogyre avec de l'oxyde de zinc ne change pas le sens du pouvoir rotatoire, mais le diminue de plus de moitié. L'interprétation de ce fait reste à trouver; mais il ne ressort pas moins avec évidence de ces observations que les deux microbes ont rendu active une solution inactive de lactate de soude.

Il est à noter aussi que les deux microbes attaquent la molécule gauche, et agissent comme le *Penicillium glaucum* vis-à-vis des acides racémiques lactique et tartrique.

*En résumé, dans une solution de peptone, le Bact. coli commune agit comme un ferment énergique des glucoses et des saccharoses, tandis que le bacille typhique, ferment moins énergique des glucoses, ne fait pas fermenter les saccharoses dans le même milieu aux dépens de la glucose: le premier fait de l'acide lactique dextrogyre et le second de l'acide lactique lévogyre ou de l'acide lactique inactif. Ils paraissent procéder de la même manière aux dépens de l'acide lactique inactif.*

Pour les reconnaître, ainsi que le recommandent MM. Chantemesse, Perdriz et Widal, il suffira de les ensemercer dans une solution de peptone additionnée de lactose et de carbonate de chaux : le sucre de canne peut remplacer le sucre de lait.

ANTAGONISME ENTRE LA FONCTION PRODUCTIVE D'INDOL ET LA FONCTION  
FERMENTATIVE DES SUCRES

## I.

Si on ensemence le *Bact. coli commune* dans une solution à 2 0/0 de peptone, renfermant 5 0/0 de lactose et la quantité convenable de carbonate de chaux, on constate que la réaction de l'indol ne peut être obtenue après un ou plusieurs jours. L'affirmation de M. Baginski (*l. c.*) à ce sujet est donc exacte. Quand on cherche la raison de ce fait, on s'aperçoit qu'il est dû, non pas à ce que l'indol serait masqué par un phénomène chimique quelconque, mais à ce qu'il n'a pas pris naissance; et comme il s'en forme dans une solution acide de peptone, même lorsque l'acidité est due à de l'acide lactique, on ne peut songer, pour expliquer son absence dans le liquide sucré, à une influence de la réaction acide du liquide comme celles qui ont été mises en évidence par MM. Wasserzug<sup>1</sup>, Hueppe<sup>2</sup>, Laurent<sup>3</sup>, Gessard<sup>4</sup>.

La causalité du phénomène semble résider dans une modification imprimée par la présence de la matière hydrocarbonée à la nutrition intime de la cellule : le microbe ayant à sa portée du carbone sous une forme qui lui convient, ménage son attaque de la peptone, et n'aboutit pas jusqu'à l'indol.

Mais sa faculté d'en produire est simplement suspendue, mais non abolie, et l'acide nitreux révèle l'indol lorsque le réactif cupro-sodique ne décèle plus de sucre. Dans ma solution à 2 0/0 de lactose, l'acide nitreux était sans action après 24 heures, mais la liqueur bleue était réduite; après 48 heures, on ne trouvait plus de sucre, mais l'acide nitreux produisait une coloration rosée. Dans une solution à 5 0/0 de lactose, au 8<sup>e</sup> jour on observait une faible action sur la liqueur cuprique et la réaction de l'indol faisait défaut; le lendemain, toute trace de sucre disparue, on obtenait une faible coloration rosée, et le 10<sup>e</sup> jour la réaction de l'indol était devenue plus prononcée.

1. *Ces Annales*, t. I, p. 587.

2. *Arbeit. a. d. Kais. Gesund.*, t. II, p. 353.

3. *Ces Annales*, t. IX, n<sup>o</sup> 8.

4. *Ces Annales*, t. V, n<sup>o</sup> 12, et *Revue scientifique* : Pus bleu et lait bleu, 1892, 1<sup>er</sup> sem.

La réaction de l'indol témoigne de la disparition du sucre.

Tous les sucres possèdent le même pouvoir préservateur, mais particulièrement les glucoses.

Les choses ne se passent pas exactement de même lorsqu'on cultive le bacille dans une solution de peptone glucosée ne renfermant pas un excès de carbonate de chaux. L'acidité du milieu arrive bientôt à son maximum; la fermentation continue sans se manifester par aucun phénomène extérieur, grâce aux petites quantités d'alcali produites aux dépens de la peptone : il s'établit une sorte d'équilibre dont l'effet est d'assurer la préservation de la peptone contre les dégradations dont l'indol est l'indice. Avec la saccharose, l'indol peut apparaître rapidement lorsqu'on a employé de la vieille semence :

Si on effectue une série de passages dans la liqueur peptone-glucose, la semence de la 15<sup>e</sup> génération, transportée dans une solution de peptone pure, y fait de l'indol comme le microbe originel : il n'y a donc pas eu atténuation de la fonction. On ne peut ainsi réussir à créer une race du *Bact. coli commune* dépourvue du pouvoir putréfactif. L'immunité temporaire de la peptone dans un milieu de culture sucré tient donc à la présence du sucre et à sa qualité de substance fermentescible.

Nous arrivons ainsi à préciser définitivement les conditions de milieu les plus propres à favoriser la production de l'indol en remarquant que tout aliment azoté ou hydrocarboné ajouté à la peptone retarde ou diminue l'attaque qu'elle subit : la réaction de l'indol doit être essayée sur une solution pure de peptone pancréatique.

## II

La présence du sucre garantit la peptone contre la putréfaction : cette préservation se maintient autant que dure la fermentation du sucre. Pour faire pénétrer cette notion dans le domaine de la pratique, il y a lieu de se demander ce qui adviendrait d'un liquide naturel, tel que du lait dont quelque circonstance aurait amené la souillure par le *Bact. coli commune* et par quelque microbe producteur de peptone, tel que le *Tyrophrix tenuis*.

*A priori*, on peut soupçonner qu'à cause même de la proportion élevée de lactose qu'il renferme, le lait se montrera rebelle à



l'action putréfactive du microbe d'Escherich, tout au moins dans les premiers jours. Lorsqu'on introduit simultanément la semence des deux microbes, tout se passe comme si le bacille d'Escherich était seul présent; le lait est rapidement coagulé, le *Tyrothrix tenuis* ne manifeste pas sa présence, n'ayant pu résister à l'acidité du milieu. Si on n'introduit le *Bact. coli commune* qu'après que le *T. tenuis* a peptonisé la caséine et rendu le liquide sensiblement ammoniacal, on observe après quelques heures le dégagement de petites bulles de gaz dues à la décomposition du carbonate d'ammoniaque par les acides formés aux dépens du sucre; le liquide devient neutre, puis acide; il se produit parfois un coagulum léger, et le bacille d'Escherich continue son évolution, comme dans une solution de peptone lactosée: après plusieurs jours, il ne s'est pas formé d'indol. Si enfin, on permet au *tyrothrix tenuis* d'accumuler ses produits d'usure, le *Bact. coli* ne vit plus dans ce milieu trop ammoniacal.

La symbiose, dont nous avons vu sur la caséine les effets si saisissants et si rapides, ne se révèle pas ici.

Mais si, après la formation de la peptone et l'ensemencement du bacille du côlon, on ajoute avec pureté et à intervalles convenables de petites quantités d'une solution étendue de soude, de manière à ne laisser au liquide qu'une réaction faiblement acide ou neutre, pour simuler l'apport d'alcali par lequel la muqueuse intestinale neutralise en partie les acides formés par les microbes, l'indol apparaîtra après transformation complète de la lactose: la peptone a encore été préservée comme dans les expériences précédentes: le lait a résisté à la putréfaction pendant plusieurs jours.

La constatation de ces faits me semble importante à divers points de vue. On peut d'abord en tirer une indication favorable au régime lacté dans les circonstances nombreuses où semble indiquée l'antisepsie intestinale. M. Muller a montré que les quantités d'indigogène dans l'urine sont au maximum dans le régime exclusivement azoté, diminuent dans le régime mixte, et sont réduites au minimum dans le régime lacté. Si la quantité d'indigogène dans l'urine augmente avec la quantité d'indol produite dans l'intestin, on voit apparaître un parallélisme entre les phénomènes de putréfaction intestinale et ceux qu'on observe *in vitro*. Peut-être le lait se comporte-t-il de la même façon vis-à-

vis à autres microbes producteurs d'indol, comme par exemple le microbe de Bieger, qui se trouve précisément être un ferment énergique des glucoses.

Dans le même ordre d'idées, il est permis de trouver un peu prématurées les conclusions de MM. Macfadyen, Nencki et Sieber, qui, n'ayant pu trouver ni tyrosine ni indol dans les liquides de culture des microbes qu'ils ont isolés dans un travail récent<sup>1</sup>, en ont conclu, au rôle nul, ou à peu près nul des microbes dans la digestion des matières albumineuses. Les microbes qu'ils ont étudiés sont précisément aussi des ferments des matières sucrées, qu'ils décomposent en donnant des acides divers, et il pourrait se faire qu'ici encore, ces sucres aient préservé la matière albuminoïde contre toute attaque un peu profonde.

Enfin, en envisageant l'indol comme une substance toxique, destinée à être transformée physiologiquement en indigogène qu'éliminent les urines, on arrive à relier les faits qui précèdent aux phénomènes de production des toxines, qui, elles aussi, dérivent de la matière albuminoïde par une série de mutations régressives plus ou moins profondes; et alors, on peut, peut-être, rappeler utilement que, d'après MM. Vaillard et Vincent<sup>2</sup>, les cultures du bacille du tétanos sont moins toxiques quand elles sont faites en présence d'une matière sucrée, glucose ou maltose. Peut-être le sucre a-t-il joué ici le même rôle qu'avec le *Bact. coli commune*.

On voit, en résumé, qu'une étude précise des relations entre la composition du milieu de culture et l'aptitude fonctionnelle de nos deux microbes nous a permis de faire disparaître quelques-unes des contradictions existant dans leur histoire. On voit aussi qu'ils se différencient davantage à mesure qu'on les connaît mieux. Sans doute cette différenciation est parfois délicate : mais il ne faut pas se dissimuler que l'heureux temps des différenciations faciles est passé, et ne reviendra plus. Plus nous pénétrons dans l'étude des microbes, plus nous trouvons, entre les espèces qu'on croyait autrefois bien distinctes, des termes de transition qu'on ne peut classer qu'au prix d'une étude patiente, dans laquelle la chimie et la physiologie doivent se prêter un mutuel secours.

1. *Archiv. f. exp. Pathol.* t. XXVIII. V. aussi les *Annales, revues critique*, t. V, n° 6.

2. *Ces Annales*, t. V., n° 1.

# NOUVEAUX FAITS

## CONCERNANT LE RÔLE DU SYSTÈME NERVEUX

### DANS L'INFECTION MICROBIENNE,

PAR MM. DACHE ET MALVOZ <sup>1</sup>.

---

Les travaux de Virchow, Samuel, Charrin et Ruffer, Roger, Gley, Bouchard, Herman, etc., ont montré la grande influence du système nerveux sur les processus inflammatoires et sur l'infection microbienne. Mais cette étude est à peine ébauchée, et, pour le moment, les faits d'observation sont encore trop peu nombreux pour permettre l'édification d'une théorie sur le rôle du système nerveux vis-à-vis des agents infectieux. Nous rapportons, dans cette note, un certain nombre de faits relatifs à cette question importante : bien que nous ne puissions, pour le moment, en fournir l'interprétation complète, nous avons tenu à les consigner dès maintenant, parce qu'il nous a paru que, tels quels, ils pouvaient déjà devenir le point de départ d'intéressantes et utiles observations.

Partant de cette notion qu'en thèse générale l'inoculation d'un microbe chez un animal résistant provoque surtout une réaction locale, tandis que chez les espèces très sensibles le

1. Travail du laboratoire de bactériologie du prof. Firket, à l'Université de Liège.

Une partie des expériences rapportées dans ce travail a fait l'objet d'un mémoire présenté par l'un de nous au Concours des bourses de voyage de 1892 et agréé par le jury.

Nous tenons à remercier publiquement la *Société de salubrité et d'hygiène de la province de Liège*, dont un subside important nous a aidé à poursuivre ces expériences relativement coûteuses.

microparasite se généralise d'emblée, le plus souvent sans trace de réaction au point d'introduction, nous nous sommes demandé si le fait de l'augmentation de la réaction locale produite par la section nerveuse — fait ressortant des expériences des auteurs précités — ne pourrait pas jouer un rôle très utile dans la protection de l'organisme contre l'invasion de certains microbes virulents dans les conditions habituelles d'expérimentation. C'est en instituant une série de recherches dans cette direction que nous sommes arrivés à ce résultat, fort important aussi bien au point de vue doctrinal que pratique, que la section nerveuse chez un animal sensible au virus charbonneux a pour effet de le rendre beaucoup plus apte à subir les inoculations vaccinales et à en bénéficier.

Nous exposerons nos expériences dans l'ordre correspondant aux questions que nous nous sommes successivement posées.

Nous avons voulu nous assurer d'abord, par de nouveaux faits, de la réalité des constatations de Charrin, Ruffer, Féré, etc. : est-il vrai que la section d'un nerf ait pour résultat habituel d'exalter la réaction inflammatoire vis-à-vis des microbes introduits dans sa sphère d'action ?

Nous avons déterminé, une fois pour toutes, quelle était la quantité de bouillon de culture du staphylocoque blanc nécessaire pour provoquer un abcès sous-cutané de la cuisse et du cou chez le lapin. Nous avons trouvé que la dose oscille autour d'un centimètre cube de bouillon de veau peptonisé et alcalinisé, ayant séjourné deux jours à 37°. Nous n'avons pas réussi, avec des doses de trois quarts de centimètre cube et au-dessous, à produire des abcès aux points considérés.

Au contraire, si l'on pratique, dans ces régions, l'inoculation d'une dose moins considérable, mais chez des animaux auxquels on a préalablement sectionné soit le nerf sciatique, soit le grand sympathique cervical, on observe régulièrement une réaction locale intense sous forme d'un abcès volumineux. L'expérience a été répétée un grand nombre de fois avec les mêmes résultats. On inoculait à des lapins normaux un tiers ou un demi-centimètre cube de culture dans le tissu sous-cutané de la cuisse et du cou sous le maxillaire ; les mêmes doses de la même culture étaient injectées aux mêmes endroits, mais chez des animaux à sciatique et à grand sympathique cervical sectionnés, et, avec une cons-



tance remarquable, nous observions l'apparition d'un abcès chez les animaux de la seconde série seulement <sup>1</sup>.

Nous ne connaissons pas, à l'heure actuelle, le mécanisme de cette exaltation de la réaction inflammatoire microbienne par la section nerveuse. L'immobilisation du membre produite par la section du sciatique ne paraît pas être en cause : tout au moins, avons-nous pu inoculer dans la patte d'un lapin, immobilisé ensuite par un appareil plâtré, la dose de culture qui dans un membre énérvé amène la suppuration, sans observer l'apparition de celle-ci. Une diminution dans l'activité de la circulation ne paraît pas, non plus, pouvoir expliquer à elle seule le phénomène : la ligature de l'artère principale du membre n'a pas été suivie de cette augmentation dans l'intensité de la réaction pyogénique. Gärtner <sup>2</sup> a fait la même constatation : en inoculant à des lapins, auxquels il avait lié l'artère crurale, des staphylocoques par voie sous-cutanée, il a vu la suppuration se produire moins facilement que dans les conditions habituelles.

Notre première série d'expériences confirmait donc les résultats des auteurs qui s'étaient occupés, avant nous, de cette question. On sait quelle importance a pris l'étude de la réaction locale microbienne, depuis que l'on envisage celle-ci comme une réaction salutaire de l'organisme contre l'infection générale. Or, il est possible, par la section nerveuse, d'augmenter la puissance de cette réaction au point d'inoculation. N'était-il pas permis, dès lors, de songer à utiliser cette remarquable propriété des tissus énérvés, au point de vue de la défense de l'organisme contre l'envahissement de certains microbes particulièrement virulents ?

On sait que la vaccination charbonneuse pastorienne, *par voie sous-cutanée*, si elle réussit admirablement chez le bœuf et le mouton, donne des résultats bien moins encourageants chez le lapin, animal trop sensible à l'action du virus. Si l'on opère chez le lapin comme chez le mouton par exemple, c'est-à-dire si l'on inocule à quelques jours d'intervalle, sous la peau, du premier et

1. Ochotine, dans un travail récent (De l'influence de la paralysie vaso-motrice sur l'évolution de l'inflammation produite par le streptocoque de l'érysipèle. *Archives de médecine expérimentale*, 1<sup>er</sup> mars 92), rapporte des faits analogues quant à l'augmentation de la réaction locale par l'extirpation du ganglion cervical supérieur.

2. *Beiträge z. pathol. Anat.*, 1891, t. IX.

du second vaccins pastoriens, et si l'on fait suivre ce traitement de l'injection des bacilles non atténués, on constate qu'un grand nombre d'animaux succombent : le second vaccin, à lui seul, amène déjà fréquemment la mort des lapins. Tous ces faits sont bien connus depuis les travaux classiques de Pasteur, Roux et Chamberland, etc.

Nous nous sommes demandé s'il ne serait pas possible d'obtenir de meilleurs résultats en utilisant les données acquises par les expériences sur les effets de l'énervation. L'inoculation des vaccins I et II dans le tissu sous-cutané d'un membre énervé ne serait-elle pas suivie d'une réaction locale plus intense que dans les conditions ordinaires, et, dans l'affirmative, les animaux ainsi traités ne seraient-ils pas plus sûrement protégés contre le microbe virulent? Les faits suivants ont confirmé, au moins en grande partie, la justesse de l'hypothèse.

Nous nous sommes servis, pour ces expériences, de vaccins que l'Institut Pasteur nous avait très obligeamment adressés. Nous les avons reçus parfaitement purs et nous les avons reproduits dans des ensemencements réguliers.

Nous avons comparé d'abord les effets de l'injection du premier vaccin charbonneux dans la patte du lapin sain et dans celle de l'animal à sciatique sectionné. Nous nous sommes toujours servis d'animaux de même race, approximativement de même âge et de même poids (2<sup>k</sup>,5 à 3 kilogr.).

Chez le lapin normal, nous n'avons pas observé de réaction locale appréciable : pas de suppuration, pas de gonflement ganglionnaire, pas de mort des animaux. Au contraire, chez quinze lapins à sciatique coupé, ayant reçu, trois à quatre semaines après la section du nerf, des doses de vaccin I en bouillon variant de 1/10 à 1c. c., nous avons vu apparaître régulièrement, deux à trois jours après l'injection, un gonflement très manifeste des ganglions voisins du point d'inoculation : on sentait parfaitement sous la peau des nodosités dures, mobiles, qui, excisées, ont montré tous les caractères des ganglions lymphatiques. La tuméfaction de ces derniers n'a pas été jusqu'à la suppuration.

A la suite de l'inoculation du second vaccin charbonneux dans le tissu sous-cutané de la patte du lapin normal (n'ayant pas reçu du vaccin I), nous avons observé de l'œdème local ; très fréquemment, dans plus de la moitié des cas, la mort de

l'animal s'ensuivait. Au contraire, en pratiquant la même injection chez des lapins à sciatique coupé (et les expériences ont porté sur quatorze animaux), on obtenait une tuméfaction très notable des ganglions voisins du point d'introduction, mais les animaux survivaient. Nous transcrivons, à titre d'exemple, les observations suivantes, absolument typiques.

Section du nerf sciatique à deux lapins. Après trois semaines, inoculation dans la patte énervée d'un quart de centimètre cube de second vaccin en bouillon, resté deux jours à 37°; en même temps, injection du même liquide aux mêmes doses à des lapins normaux. Les jours suivants, les lapins non énervés sont très malades; l'un d'eux même est couché sur le flanc, insensible, accusant une hypothermie considérable (34°6); le contraste est frappant avec les animaux à sciatiques coupés: ceux-ci ne paraissent pas indisposés, mangent tranquillement dans leur loge. L'un des lapins non énervés a succombé (bacilles dans le sang): il présentait de l'œdème au point d'inoculation, mais pas de gonflement ganglionnaire. Au contraire, les deux lapins énervés sont restés sains, et près du point d'injection on trouvait de gros ganglions mobiles sous la peau.

Si l'on inocule le second vaccin dans le tissu sous-cutané du lapin déjà traité par le premier vaccin, un bon nombre d'animaux succombent, ou bien ceux qui résistent sont malades. *Nous n'avons pas eu un seul cas de mort* chez les lapins à sciatique coupé auxquels nous avons injecté successivement, dans la patte correspondante, les deux vaccins charbonneux; des tumeurs ganglionnaires se sont développées dans la région inoculée, et les animaux, au nombre de quinze, sont restés bien portants.

Nous avons ensuite inoculé à une série de lapins des cultures fraîches de charbon virulent; la mort des animaux se produisait régulièrement après 18 à 30 heures. Chez les lapins à sciatique coupé, au contraire, les mêmes doses de culture, introduites dans la patte énervée, si elles ont fait mourir les animaux, n'ont amené cette mort qu'après un temps plus considérable, souvent après cinq et six jours seulement. Chose curieuse, tandis que chez les lapins normaux, succombant rapidement au charbon, on n'observait au voisinage du point d'introduction que de l'œdème et parfois un petit ganglion gros comme un pois, on trouvait au contraire chez les animaux énervés, non pas de l'œdème, mais un ganglion volumineux, d'autant plus gros que la survie avait été plus longue. Nous

conservons un de ces ganglions, dont les dimensions atteignent celles d'une grosse noix : l'animal avait résisté cinq jours.

Enfin, l'inoculation du charbon virulent dans la patte énervée, chez des animaux traités préalablement par les deux vaccins introduits au même point, a amené seulement la mort d'un animal sur cinq (la série comprenait quinze animaux). Les animaux qui ont succombé sont morts plus tardivement que dans les conditions ordinaires. Les lapins à sciatique non coupé, traités par les deux vaccins charbonneux inoculés sous la peau, résistent bien moins à l'action des bacilles virulents.

Il paraît donc hors de doute qu'à la suite de la section nerveuse, on observe un renforcement de l'immunité des lapins contre l'infection des bacilles charbonneux introduits dans la région du nerf coupé. Quel est le mécanisme du phénomène ? Il est impossible de ne pas être frappé de la présence constante chez les animaux énervés, au voisinage du point d'inoculation des vaccins et des microbes virulents, et après l'introduction de ceux-ci, de ganglions très tuméfiés, témoignant d'une suractivité spéciale des processus inflammatoires réactionnels. Nous nous réservons de pousser plus à fond l'étude de ces phénomènes, d'instituer de nouvelles recherches et, éventuellement, d'en appliquer les données à d'autres maladies microbiennes.

---



## INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE <sup>1</sup> DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — JUIN 1892.

	A			B			C		
Morsures à la tête { simples . . . . .	»	»	1	»	8	9	»	4	6
et à la figure { multiples . . . . .	»	1	1	»	1	9	»	2	6
Cautérisations efficaces . . . . .	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces . . . . .	»	»	»	»	3	»	»	3	»
Pas de cautérisation. . . . .	1	»	»	»	6	»	»	3	»
Morsures aux mains { simples . . . . .	»	»	»	»	35	58	»	21	42
{ multiples . . . . .	»	»	»	»	23	»	»	21	»
Cautérisations efficaces . . . . .	»	»	»	»	1	»	»	»	»
— inefficaces . . . . .	»	»	»	»	24	»	»	24	»
Pas de cautérisation. . . . .	»	»	»	»	33	»	»	28	»
Morsures aux mem- { simples . . . . .	»	2	3	»	14	27	»	9	24
bres et au tronc { multiples . . . . .	»	1	3	»	13	»	»	15	»
Cautérisations efficaces . . . . .	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces . . . . .	3	»	»	»	15	»	»	11	»
Pas de cautérisation. . . . .	»	»	»	»	12	»	»	13	»
Habits déchirés. . . . .	2	»	»	»	21	»	»	18	»
Morsures à nu. . . . .	1	»	»	»	6	»	»	6	»
Morsures multiples en divers points du corps. . . . .	»	»	»	»	1	1	»	2	2
Cautérisations efficaces . . . . .	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces . . . . .	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation. . . . .	»	»	»	»	1	»	»	2	»
Habits déchirés. . . . .	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Morsures à nu . . . . .	»	»	»	»	1	»	»	2	»
<hr/>									
Totaux. { Français et Algériens . . . . .	4	»	4	76	»	95	71	»	74
{ Etrangers. . . . .	»	»	»	9	»	»	3	»	»
	A			B			C		
<hr/>									
TOTAL GÉNÉRAL . . . . . 173									

Les animaux mordeurs ont été : chats, 10 fois ; âne une fois ; chiens, 162 fois.

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement ; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire ; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et Cie.









